

N° D'ORDRE :

155

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Aline BERNARD

LICENCIÉE ÈS SCIENCES

1^{re} **THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA COMPOSITION
MINÉRALE DU MILIEU INTÉRIEUR ET POTASSIUM
MUSCULAIRE DANS LA SÉRIE ANIMALE.

2^{me} **THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues en juillet 1941 devant la Commission d'examen.

MM. CARDOT, *Président.*

LEMARCHANDS

KÜHNER

} *Membres du Jury.*

LYON ET VILLEURBANNE
ASSOCIATION TYPOGRAPHIQUE

P. PINTAPARIS, Directeur

—
1941



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554206_0022

N° D'ORDRE :

155

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Aline BERNARD

LICENCIÉE ÈS SCIENCES

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA COMPOSITION
MINÉRALE DU MILIEU INTÉRIEUR ET POTASSIUM
MUSCULAIRE DANS LA SÉRIE ANIMALE.

2^m THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues en juillet 1941 devant la Commission d'examen.

MM. CARDOT, *Président.*

LEMARCHANDS	}	<i>Membres du Jury.</i>
KÜHNER		

LYON ET VILLEURBANNE
ASSOCIATION TYPOGRAPHIQUE
P. PINTAPARIS, Directeur

1941

UNIVERSITÉ DE LYON - FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DOUIN, *, ,  I.

Assesseur

M. CARDOT, *,  I.

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON, *, ,  I., .

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, C. *,  I.

MM. VANEY, *,  I., .

RIGOLLOT, *,  I.

ROMAN, *,  I.

COUTURIER, *,  I., .

MEUNIER, O. *,  I.

DULAC, *,  I.

Maître de conférences honoraire

M. BONNET, *,  I.

Professeurs

MM. SIRE, *,  I., , *Mécanique rationnelle et appliquée.*

CARDOT, *,  I., *Physiologie générale.*

LOCQUIN, *,  I., *Chimie générale.*

LONGCHAMBON, *, ,  I., , *Minéralogie.*

DOUIN, *, ,  I., *Botanique.*

DÉJARDIN, *,  I., *Physique générale.*

SOLLAUD,  I., *Zoologie.*

LEMARCHANDS, *,  I., *Chimie minérale.*

EYRAUD,  I., *Calcul différentiel et intégral.*

THORAL,  A., *Géologie.*

LÉGAUT,  A., *Mathématiques.*

TRILLAT, *,  I., *Physique expérimentale.*

FROMAGEOT,  I., *Chimie biologique.*

AUMÉRAS,  I., *Chimie physique.*

DŒUVRE,  I., *Chimie organique.*

N..., *Chimie industrielle.*

Maîtres de conférences et chargés de cours

MM. PRETTRE, *Chimie minérale.*

KÜHNER, *Botanique.*

BERNARD, *Zoologie.*

Chargés de cours complémentaires

MM. DUFAY, *Astronomie et Physique supérieure.*

VIRET,  I., *Etude des roches.*

TRONCHET,  A., *Botanique.*

MAYET, *,  I., , *Anthropologie.*

PELOSSE,  I., *Sériciculture.*

COLONGE,  A., *Chimie générale.*

Secrétaire

M. ROUX,  A.



A LA MÉMOIRE DE MES PARENTS

AUX MIENS ET A MES AMIS

A NOTRE MAÎTRE
MONSIEUR LE PROFESSEUR LEULIER
*Professeur de Pharmacie et de Pharmacologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon
Officier de la Légion d'honneur*

Témoignage de reconnaissance et
d'affectueux attachement.

INTRODUCTION

Ce travail réunit les recherches que nous poursuivons depuis une dizaine d'années, dans le laboratoire de M. le Professeur LEULIER, sur le milieu intérieur des êtres vivants et le potassium musculaire.

C'est à une première étude sur la composition minérale du milieu intérieur des invertébrés marins que nous avons appliqué les microméthodes modernes au dosage des métaux alcalins et nous sommes heureuse d'exprimer ici notre profonde gratitude à M. le Professeur CARDOT qui nous a guidée dans ces recherches, donné les matériaux d'étude et offert l'hospitalité à la Station Maritime de Biologie de Tamaris.

Un premier fait s'impose à l'attention dès que l'on parcourt les innombrables chiffres donnés sur la composition minérale du milieu intérieur des êtres vivants : c'est leur marge importante de variations et la diversité des méthodes utilisées ; la plupart des chercheurs anciens ont opéré sur les cendres et toujours ont été mises en œuvre des macrométhodes. De plus, très souvent, la concentration du milieu intérieur a été appréciée globa-

lement par détermination du point de congélation ou bien, encore, d'un dosage de chlore certains auteurs tirent la concentration en chlorure de sodium.

L'apparition des microméthodes nous a permis de tenter les dosages des cations alcalins et alcalino-terreux du milieu intérieur, non seulement d'un lot d'animaux, mais souvent d'un même animal de façon à saisir les variations physiologiques dans des conditions de vie identique.

Nous savons, en effet, que de très larges variations du milieu intérieur sont compatibles avec la vie et *Helix pomatia* en est un exemple typique ; il peut concentrer son milieu intérieur en éléments minéraux aussi bien qu'en éléments organiques suivant qu'il est en vie active ou en vie ralentie. D'autre part, DUVAL a donné une preuve expérimentale de la dépendance de *Helix pomatia* vis-à-vis du milieu extérieur : en le plongeant dans l'eau il a vu qu'il continuait à vivre avec un milieu intérieur dont le point de congélation était passé de $-0^{\circ}30$ à $-0^{\circ}20$. Nous savons aussi que certains invertébrés marins ou d'eau douce ont une certaine passivité vis-à-vis du milieu extérieur, ce qui ne va pas pour les uns sans désordres plus ou moins graves (Ecrevisse) (1), alors que pour d'autres le milieu intérieur reflète, sinon exactement, du moins de très près le liquide salin où ils vivent (Holothurie).

C'est un contraste saisissant que font certaines variations très larges du milieu intérieur de ces animaux avec la rigoureuse fixité minérale et l'étroite fixité organique

(1) A. DRILHON-COURTOIS. — *Annales de Physiologie et de Physico-chimie biologique*, 1934, t. X, n° 3.

du sang des mammifères NORMAUX. Et même chez l'homme les cas pathologiques sont rares où varient les éléments minéraux du sang bien que s'accumulent les causes d'élimination ou d'absorption défavorables. L'hypocalcémie n'est pas de règle dans le rachitisme et l'hyperchlorurémie n'apparaît pas dans les néphrites grâce à des mécanismes compensateurs. Sans doute a-t-on signalé de l'hyperkaliémie dans la maladie d'Addison, mais est-elle comparable avec les résultats trouvés chez l'escargot et avec les variations individuelles du crabe ?

En ce qui a trait aux éléments organiques, les variations pathologiques ne sont pas rares chez l'homme qui peuvent porter sur l'urée, le glucose, le cholestérol, les albumines plasmatiques, etc... Or, on en connaît de telles dans le cycle vital de *Helix pomatia* comme le prouvent les quelques chiffres d'extrait sec et de cendres que nous apportons.

Mais, nous le répétons, ce sont surtout les taux et les variations des métaux alcalins et alcalino-terreux qui ont retenu notre attention.

Comme conséquence naturelle de l'étude du milieu intérieur nous avons été conduite à l'étude de certains tissus, mais celle-ci n'a pas été aussi étendue et s'est bornée à un seul élément, le plus important quantitativement : le potassium ; nous avons pu de la sorte comparer les différents milieux intérieurs et la composition de certains muscles (myocarde et muscles striés). Comme il était facile de le prévoir, d'après les données fournies par les vertébrés, il a été constaté que les muscles sont plus riches en potassium que le milieu intérieur et que leur richesse en métal alcalin semble varier suivant leur

activité fonctionnelle et leur chronaxie. La concentration élevée du potassium musculaire soulève plusieurs questions. Tout d'abord celle de la pénétration et de la fixation du potassium dans les muscles.

Pour la commodité des expériences et en raison du facile ravitaillement en animaux, nous avons travaillé, « in vitro », sur le myocarde de l'escargot et de la grenouille et le gastrocnémien de cette dernière. Nous avons abordé le comportement de ces muscles dans des liquides de Ringer plus ou moins riches en potassium et avons pu faire diverses constatations, dont une au moins inconnue : celle de la fixation par le muscle d'une quantité fixe de potassium lorsqu'il est plongé dans un Ringer d'à peu près même concentration en potassium que lui-même. Ensuite devait nous retenir, mais ceci a déjà été très étudié et nié, la possibilité d'une liaison fixe du potassium avec la fibre musculaire comme l'avait suggéré NEUSCHLOSZ.

Voici le plan que nous avons suivi :

I. — LES MICROMÉTHODES UTILISÉES POUR LE DOSAGE DES CATIONS.

II. — LE MILIEU EXTÉRIEUR.

III. — LE MILIEU INTÉRIEUR.

IV. — LE POTASSIUM MUSCULAIRE.

1° Teneur en potassium de différents muscles dans la série animale.

2° Sous quelle forme se trouve le potassium dans le muscle ?

3° Recherches « in vitro » sur la diffusion et la pénétration de l'ion K.

Avant d'entrer dans le détail de notre travail nous sommes heureuse d'exprimer notre reconnaissance à nos Maîtres et à ceux qui ont facilité notre tâche.

Que M. le Professeur CARDOT veuille bien trouver ici l'expression de toute notre gratitude ; nous nous souviendrons toujours avec émotion du bienveillant accueil qu'il nous réserva à la Station Maritime de Tamaris et nous lui sommes reconnaissante d'avoir bien voulu accepter de présider notre thèse.

Nos remerciements vont à MM. les Professeurs LEMARCHANDS et KÜHNER qui nous font le grand honneur d'être nos juges.

Nous travaillons depuis bien des années dans le laboratoire de M. le Professeur LEULIER et nous avons eu l'honneur, depuis longtemps déjà, d'être élevée au rang de ses collaborateurs dans l'étude de la biochimie du potassium ; ses disciplines et ses conseils éclairés nous ont donné le goût de la recherche et c'est grâce à ses encouragements et à sa bienveillante sollicitude que nous avons pu poursuivre notre travail. Que notre Maître veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre entière affection.

Nous garderons un souvenir ému du laboratoire de chimie de l'Hôpital Desgenettes où, dans une atmosphère pleine de cordialité, nous avons toujours trouvé une aide aimable auprès de nos camarades ; nous les en remercions et leur exprimons toute notre sympathie.

CHAPITRE PREMIER

Les Microméthodes utilisées pour le dosage des cations

POTASSIUM

Méthode de A. LEULIER, L. VELLUZ et H. GRIFFON.

Cette microméthode utilise la précipitation du potassium par le cobaltinitrite de sodium et, après hydrolyse phosphatique du complexe cobalticopotassique, l'évaluation volumétrique des groupements nitreux à l'aide d'une solution titrée de permanganate de potassium.

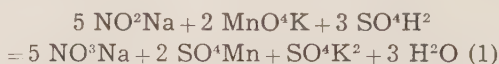
C'est DE KONINCK qui décrivit pour la première fois, en 1880, la précipitation du potassium sous l'action du cobaltinitrite de sodium ; dès lors, de nombreux chimistes utilisèrent pour doser le potassium les différentes combinaisons analytiques auxquelles se prête le complexe cobaltinitreux. L'exposé de cette suite de recher-

ches se trouve dans un mémoire publié par A. LEULIER, L. VELLUZ et H. GRIFFON (2) et plus particulièrement dans la thèse de H. GRIFFON (3). Nous avons assisté à l'élaboration de la technique que ces auteurs préconisent et l'avons utilisée constamment au cours de notre travail, aussi allons-nous la décrire dans le détail.

1° Principe de la méthode.

Le potassium est précipité en milieu faiblement acétique par addition de cobaltinitrite de sodium préparé suivant la technique de BILLMANN. Dans les conditions que nous préciserons plus loin, il se forme un précipité de cobaltinitrite double de sodium et de potassium de formule $\text{Co}(\text{NO}^2)^6\text{K}^2\text{Na}$. Le précipité, isolé par centrifugation et lavé à l'aide de liquides appropriés, est ensuite hydrolysé par une solution de phosphate de sodium qui transforme les groupements nitreux en nitrite alcalin.

L'oxydation de ce nitrite par un excès de solution de permanganate centinormale se fait suivant la réaction :



et finalement l'excès de permanganate est déterminé par iodométrie.

Un centimètre cube de solution centinormale de permanganate correspond à 0 mgr. 065 de potassium. Le calcul de ce coefficient est facile. En effet, le cobaltinitrite de sodium et de potassium que nous obtenons a pour formule :



(2) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, **10**, 891.

(3) *Thèse Pharmacien Supérieur*, Lyon, 1928.

Hydrolysé il donne naissance à un nitrite alcalin que le permanganate de potassium oxyde suivant l'équation donnée ci-dessus (1).

D'après (2), 6 NO^2 correspondent à 2 K (3).

D'après (1), 5 NO^2 correspondent à 2 MnO^4K (4).

En comparant (3) et (4), on déduit :

12 MnO^4K correspondent à 10 K (5).

Or, un litre de solution normale de permanganate de potassium contient un cinquième de molécule de permanganate de potassium, donc, d'après (5), 60 cm^3 de solution centinormale de permanganate correspondent à 0 mgr. 39×10 de potassium, soit 3 mgr. 90.

Un centimètre cube de solution centinormale de MnO^4K correspond donc à :

$$\frac{3 \text{ mg. } 9}{60} = 0 \text{ mgr. } 065 \text{ de K.}$$

2° Réactifs employés.

1° Cobaltinitrite de sodium.

On le prépare selon la technique de BILMANN :

« On dissout 150 gr. de nitrite de sodium dans 150 cm^3 d'eau chaude ; lorsque le liquide est à 40°-50° et qu'il s'est déjà formé des cristaux de nitrite de sodium, on ajoute 50 gr. de nitrate de cobalt cristallisé et peu à peu 50 cm^3 d'acide acétique à 50 %. On agite vigoureusement, puis on fait passer un fort courant d'air dans le liquide pendant trente minutes. Il se forme un précipité brun (nitrite double de sodium et de cobalt, souillé de traces de complexe cobalticopotassique). On filtre par décanta-

tion après deux heures de repos, et, quand le liquide clair est passé, on jette le précipité sur le filtre. On le redissout dans 50 cm³ d'eau à une température de 70°-80°. On filtre de nouveau et réunit à la solution claire primitivement obtenue. Le volume total est alors de 300 cm³. Peu à peu on ajoute à cette solution 250 cm³ d'alcool à 96° en agitant constamment. Il se forme un abondant précipité de cobaltinitrite de sodium qu'on recueille sur un filtre de BÜCHNER et essore à la trompe ; on lave quatre fois avec 25 cm³ d'alcool à 96° et deux fois avec 25 cm³ d'éther. On sèche à l'air. On obtient de cette façon 50 à 60 gr. de cobaltinitrite de sodium anhydre. »

H. GRIFFON a remarqué que pour obtenir un rendement de 50 à 60 gr. de réactif comme l'indique l'auteur, il apparaît indispensable de modifier la préparation du réactif de BILMANN en précipitant le cobaltinitrite de sodium par une quantité d'alcool double, soit 400 à 500 cm³ d'alcool à 96°.

Ce réactif est dissous au moment de l'emploi dans de l'eau acétique à 1 % (non en solution aqueuse comme l'indique BILMANN).

2° *Liquides de lavage du précipité de cobaltinitrite de potassium.*

- | | |
|-----------------------------|----------------------|
| a) Alcool à 95°..... | 12 cm ³ . |
| Ether | 12 cm ³ . |
| Acide acétique glacial..... | 4 cm ³ . |
| Eau distillée..... | 6 cm ³ . |
| b) Alcool à 95°..... | 10 cm ³ . |
| Ether | 10 cm ³ . |
| c) Ether pur. | |

3° *Solution de phosphate de sodium à 5 %.*

Sert à hydrolyser le précipité de cobaltinitrite de potassium.

4° *Acide sulfurique pur à 25 % (en volumes).*

5° *Solution d'iodure de potassium à 10 %.*

6° *Solution décimale de permanganate de potassium.* Cette solution s'emploie après dilution au dixième ou au cinquième.

7° *Solution centimale d'hyposulfite de sodium préparée par dilution extemporanée d'une solution décimale.*

3° **Mode opératoire.**

Toutes les opérations jusqu'au moment de l'oxydation des nitrites par le permanganate sont effectuées dans le même tube à centrifuger et il est possible ainsi de procéder à plusieurs dosages à la fois. La teneur de la prise d'essai en potassium peut varier de 0,1 mgr. à 5 mgr. pour un volume correspondant de 1 à 5 cm³.

1° La solution très exactement mesurée est additionnée, dans le tube à centrifuger, d'un volume de solution de cobaltinitrite de sodium tel que la concentration finale en cobaltinitrite soit de 1 p. 20. On mélange soigneusement par agitation et laisse reposer pendant trente minutes, le tube étant maintenu rigoureusement vertical. On évite ainsi une précipitation partielle sur les parois.

2° On centrifuge pendant cinq minutes à grande vitesse, ce qui suffit généralement pour que la liqueur surnageant le précipité soit parfaitement limpide. La

décantation du liquide est toujours très facile sans qu'il y ait entraînement du précipité.

3° Par une série de lavages, l'excès de réactif est enlevé. On projette à l'aide d'un jet de pipette 5 cm³ environ du liquide de lavage *a* sur le précipité de manière à le mettre entièrement en suspension. On centrifuge pendant trois minutes et le liquide surnageant est décanté. L'opération est répétée deux fois encore avec le mélange *a*, puis une fois avec le mélange alcool-éther et une dernière fois avec l'éther.

4° Après évaporation spontanée de l'éther qui imbibe le précipité, on verse 5 à 7 cm³ de solution de phosphate de sodium ; le précipité est mis en suspension à l'aide d'un agitateur qui reste dans le tube jusqu'à la fin de l'opération. Le tube est porté au bain-marie bouillant pendant cinq minutes. Le précipité jaune de cobaltinitrite de potassium disparaît, faisant place à un louche brun jaune, plus ou moins foncé suivant la quantité de potassium. Ce louche est dû au phosphate de cobalt formé, peu soluble dans ces conditions (excès de phosphate sodique), mais qui se dissout très rapidement lorsqu'on lave le tube à l'eau distillée.

5° Le liquide d'hydrolyse et les eaux de lavage du tube (volume total 15 à 20 cm³) sont versés dans un bécher contenant déjà 20 cm³ de solution permanganique (dilution au dixième de la solution mère) et 1 cm³ d'acide sulfurique à 25 %. On agite et on attend trente minutes. Au bout de ce temps, l'oxydation est complète et on ajoute 3 cm³ de solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est titré par l'hyposulfite centinormal à

l'aide d'une burette graduée en vingtièmes de centimètre cube.

La solution de permanganate utilisée est titrée dans les mêmes conditions. Soit N cm³ le volume d'hyposulfite trouvé pour le témoin et N' le volume obtenu pour la solution de nitrite, la teneur de la prise d'essai en milligrammes de potassium est donnée par la relation :

$$(N-N') \times 0,065.$$

Pour des prises d'essai supérieures à 1 mgr. de potassium, on doit utiliser des solutions permanganiques plus concentrées. L'iode libéré est dosé dans ce cas avec une solution cinquantième normale d'hyposulfite. Par un calcul facile, on est ramené au cas précédent.

Dans l'application rigoureuse de cette technique au dosage du potassium dans des solutions titrées de chlorure de potassium, l'erreur est généralement inférieure à 3 %.

Application aux liquides et tissus animaux.

Nous rapportons ici les précisions et les remarques faites par A. LEULIER et nous-même (4) sur l'utilisation de la microméthode que nous venons de décrire au dosage du potassium dans le plasma et les muscles et donnons les chiffres justificatifs démontrant l'exactitude pratique de la méthode.

A. — TECHNIQUE.

1° Plasma ou liquide albumineux.

On centrifuge le sang immédiatement après prélèvement, on décante le plasma qui doit être limpide et plus

(4) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1934, **16**, 1663.

ou moins jaunâtre, mais jamais hémolysé ; on le désalbumine avec un volume égal d'acide trichloracétique à 20 %, on filtre et on prélève autant de fois 4 cm³ de filtrat que l'on veut faire de dosages (au moins deux) ; chaque prise d'essai est mesurée exactement dans un tube à centrifuger, neutralisée par du carbonate de lithine pur, exempt de potassium, et le léger excès qui ne se dissout pas dans le liquide est mis en solution par une goutte d'acide acétique pur. La précipitation du potassium se fait ensuite suivant la méthode décrite plus haut.

2° *Muscles et organes.*

La prise d'essai de tissu frais doit être de 0 gr. 10 à 0 gr. 20 de façon à contenir environ 0 mgr. 5 à 1 mgr. de potassium : c'est en effet dans ces limites que la méthode est le plus fidèle. Il est évident que l'échantillon ne devra contenir ni aponévrose ni graisse apparentes. Aussitôt après le prélèvement, il est pesé exactement dans un tube à centrifuger en pyrex, préalablement taré, on ajoute alors 0 cm³ 5 de mélange sulfo-perchlorique (acide perchlorique : 65 cm³, acide sulfurique : 35 cm³). Pour une même détermination, il convient de faire au moins deux prises d'essai et deux dosages. On chauffe alors le tube sur toile métallique à la lampe à alcool avec précaution de façon à éviter toute déflagration et projection.

Lorsqu'on a un liquide complètement incolore, on laisse refroidir et on ajoute 2 cm³ d'eau. La liqueur est neutralisée par additions fractionnées de carbonate de lithine pur (à peu près 0 gr. 40). Il faut en ajouter un

très léger excès qui reste insoluble. Ce résidu est dissous à l'aide de 3 à 4 gouttes d'acide acétique cristallisable. Il convient à ce moment de se débarrasser de l'ammoniaque qui précipiterait en même temps que le potassium : pour cela le tube est porté au bain-marie bouillant après addition de 2 cm³ de solution de nitrite de soude à 20 % et 0 cm³ 5 d'acide acétique cristallisable. On chauffe une demi-heure. Après refroidissement, on ajoute 1 cm³ de solution aqueuse à 1 % d'acide acétique cristallisable renfermant 0 gr. 25 de cobaltinitrite de sodium. On laisse précipiter pendant trente minutes, puis on centrifuge et on enlève à la pipette environ 2 cm³ 5 à 3 cm³ de liquide surnageant que l'on remplace par de l'eau distillée pour diminuer la densité du liquide ; de cette façon, après une nouvelle centrifugation, on peut décantier à fond sans risquer d'entraîner du précipité.

La suite des opérations est identique à celle précédemment exposée.

B. — VÉRIFICATION.

La technique décrite pour le plasma s'applique très facilement au lait, à l'urine, au liquide céphalo-rachidien (5) et donne des résultats qui sont en parfait accord avec ceux fournis par les macrométhodes classiques. Mais on peut se demander, étant donnée la complexité du milieu, si cette même exactitude se retrouve dans l'analyse des tissus.

Comme test d'exactitude, nous avons fait appel à la méthode de vérification dite des quantités ajoutées.

(5) H. GRIFFON. — *Thèse Pharmacien Supérieur*, Lyon, 1928.

Mais, dans ce cas, il est évident que si l'on rapportait l'erreur relative expérimentale, qui est ordinairement de 2 à 3 %, à la quantité ajoutée, on arriverait à des erreurs inacceptables.

Supposons, par exemple, que la quantité ajoutée représente le dixième de la quantité totale, l'erreur relative ainsi calculée pourra atteindre 20 à 30 %.

C'est ce qui ressort du tableau suivant où sont résumées des expériences faites sur des doses variables. Les chiffres trouvés démontrent que la méthode préconisée donne des erreurs acceptables à condition de calculer l'erreur relative sur la quantité totale de potassium présente dans la prise d'essai.

K en mgr. existant dans le muscle d'après deux dosages concordants	K ajouté en mgr.	K trouvé en mgr.	Erreur	
			% K total	% K ajouté
0,750	0,117	0,871	+ 0,46	+ 3,4
1,208	0,117	1,329	+ 0,30	+ 3,4
1,124	0,234	1,319	— 2,87	— 16,6
0,882	0,293	1,212	+ 3,14	+ 12,6
0,937	0,293	1,261	+ 2,52	+ 10,5
0,839	0,586	1,482	+ 4,00	+ 9,72

Une autre série de contrôle fut tentée en opérant sur des substances organiques exemptes de potassium auxquelles était ajoutée une quantité connue de ce métal.

Nos résultats condensés dans le tableau ci-dessous démontrent une erreur constante par excès qui reste cependant dans des limites qui n'excèdent point la tolérance admise pour une microméthode.

	K ajouté en mgr.	K trouvé en mgr.	Erreur %
	0,586	0,607	+ 3,5
0 gr. 05 de glucose	0,879	0,913	+ 3,8
+ 0 gr. 0125 d'urée	1,170	1,238	+ 5,8
+ 0 cm ³ 5 de mélange	1,170	1,228	+ 4,9
sulfo-perchlorique	1,170	1,231	+ 5,2
	1,170	1,235	+ 5,5

CALCIUM

Méthode de L. VELLUZ et R. DESCHASEAUX (6).

Cette technique de microdosage du calcium utilise le procédé classique qui consiste à précipiter le calcium à l'état d'oxalate calcique et à doser manganométriquement l'acide oxalique du précipité ; les auteurs apportent au procédé habituel les modifications essentielles suivantes du même type que celles suggérées par A. LEULIER, L. VELLUZ et H. GRIFFON (7) dans le cas du microdosage du potassium et de l'acide oxalique.

1° Ils utilisent pour laver l'oxalate calcique des solvants organiques (alcool, éther, eau) choisis de telle sorte qu'ils ne dissolvent pas l'oxalate calcique tout en permettant l'élimination complète de l'oxalate d'ammoniaque ; ces solvants permettent en outre d'éviter tout entraînement mécanique du précipité.

2° Ils oxydent l'oxalate de calcium à froid par le permanganate N/150 dont l'excès est évalué par iodométrie (hyposulfite N/200).

(6) *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **104**, 977.

(7) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, **10**, 891 et 1238.

Ibid., 1929, **1^{er}**, 46.

1° Principe de la méthode.

Le calcium est précipité à l'état d'oxalate en milieu acétique ; après séparation et oxydation de l'oxalate de calcium en milieu sulfurique par le permanganate de potassium, l'excès de ce réactif oxydant est titré par iodométrie.

2° Réactifs nécessaires.

— Solution d'acide chlorhydrique officinal dilué à 5 % en volumes.

— Solution d'acide acétique cristallisable à 0,5 % en volumes.

— Solution d'oxalate d'ammonium approximativement N/10.

— Liquides de lavage :

a) Alcool à 95°	18 cm ³ .
Ether	18 cm ³ .
Eau	15 cm ³ .

b) Alcool-éther (parties égales).

c) Ether.

— Solution d'acide sulfurique pur à 5 % en volumes.

— Solution de permanganate de potassium N/150.

— Solution d'hyposulfite de sodium N/200 (dilution extemporanée exacte de la solution N/10).

— Solution de sulfate manganeux à 1 %.

3° Mode opératoire.

On évapore à siccité dans une capsule en platine 1 à 2 cm³ de sérum et on incinère le résidu sur bec Bunsen, d'abord avec précaution, puis plus énergiquement jusqu'à obtention de cendres blanches. Après refroidisse-

ment, on verse dans la capsule 2 cm³ d'acide chlorhydrique dilué et on évapore à sec (bain-marie ou étuve). La capsule étant refroidie, on reprend le résidu, avec soin, par 5 cm³ exactement mesurés d'acide acétique dilué. La dissolution s'effectue sans difficulté ; on en prélève alors 4 cm³ qu'on introduit dans un tube à centrifuger et on ajoute 0 cm³ 5 d'oxalate d'ammonium. Le tube est maintenu vertical pendant trente minutes, puis on centrifuge à grande vitesse. On décante et on remet le précipité en suspension dans 4 cm³ environ de liquide de lavage *a* ; après centrifugation, décantation et deux lavages successifs identiques au premier, on lave l'oxalate calcique une fois à l'alcool-éther et une dernière fois à l'éther. Après décantation, on élimine toute trace d'éther en plongeant le tube dans l'eau chaude. On ajoute alors cinq gouttes d'acide sulfurique dilué en agitant le tube à la main pour diviser le précipité. Après refroidissement, on ajoute 2 cm³ de permanganate N/150, trois gouttes de sulfate manganeux à 1 % (8) et on agite de nouveau. Après cinq minutes de contact, à froid, on fait tomber dans le liquide un petit cristal d'iodure de potassium pur et on titre l'iode libéré dans le tube même, à l'aide de la solution d'hyposulfite N/200 contenue dans une microburette. Il est indispensable de titrer dans des conditions identiques le permanganate N/150 sur l'hyposulfite N/200.

Calcul.

Si n cm³ d'hyposulfite N/200 correspondent au dosage témoin et n' cm³ à l'essai : $(n - n') \times 0,125$ représente la

(8) L'addition de sulfate manganeux est nécessaire pour obtenir une réaction régulière quelle que soit la température du laboratoire.

quantité de calcium en milligrammes contenue dans la prise d'essai de sérum.

Cette méthode avant d'être appliquée au dosage du calcium dans le sérum sanguin a été vérifiée par L. VELLUZ sur des solutions calciques titrées, pures ou complexes, contenant: Mg, KCl, NaCl, $\text{PO}_4\text{Na}^2\text{H}$ et sur des sérums additionnés ou non de quantités connues de Ca et de Mg.

Voici quelques-uns des chiffres justificatifs :

1° *Solution complexe* (en mgr. par cm^3) :

0.110 Ca : 0.025 Mg : 0.25 KCl : 0.30 $\text{PO}_4\text{Na}^2\text{H}$: 5 NaCl.

Ca théorique (macrodosage) :

a) 0.110.

b) 0.220.

Ca trouvé :

a) 0.112 : 0.109 : 0.113 : 0.111.

b) 0.219 : 0.215 : 0.214 : 0.215.

2° *Sérum de cheval* (Ca en mgr. par cm^3) :

0.109 : 0.109 : 0.111 : 0.108 : 0.112.

Moyenne : 0.110.

L'erreur reste toujours inférieure à 3 % pour les solutions salines et à 5 % pour les sérums.

Nous avons nous-même dosé le calcium dans une solution titrée d'eau de chaux contenant 0 gr. 785 de Ca par litre (macrodosage). En opérant sur 2 cm^3 de cette solution diluée au dixième, nous avons trouvé :

0.162 : 0.158 : 0.163 de Ca, au lieu de 0.157 chiffre théorique.

*
* *

Nous avons eu l'occasion de pratiquer de nombreux dosages de potassium et de calcium sur le sérum de l'homme normal et nous rapportons ci-après quelques résultats obtenus en 1932 (9) (exprimés en grammes par litre).

K : 0,182	Ca : 0,100	K/Ca : 0,93
K : 0,183	Ca : 0,098	K/Ca : 0,95
K : 0,174	Ca : 0,094	K/Ca : 0,95
K : 0,160	Ca : 0,099	K/Ca : 0,83
K : 0,186	Ca : 0,103	K/Ca : 0,92
K : 0,197	Ca : 0,096	K/Ca : 1,05
K : 0,190	Ca : 0,105	K/Ca : 0,93
K : 0,190	Ca : 0,109	K/Ca : 0,90

D'après ces résultats, le taux moyen du potassium plasmatique est aux environs de 0 gr. 190 et celui du calcium est en moyenne de 0 gr. 100 par litre. Le rapport ionique K/Ca oscille étroitement autour de 0,93.

La constance des résultats est remarquable aussi bien pour le potassium que pour le calcium.

MAGNÉSIUM

Méthode de L. VELLUZ.

La précipitation du magnésium par l'ortho-oxyquino-
léine fut signalée en 1926 par HAHN (10) comme méthode
de dosage du magnésium ; BERG (11) l'utilisa en 1927 et

(9) *Thèse Médecine* L. CAILLARD, Lyon, 1933.

(10) *Z. Anal. Chem.*, 1926, **39**, 1198.

(11) *J. Prakt.*, 1927, **115**, 178. — *Z. Anal. Chem.*, 1927, **71**, 23.

indiqua entre autres une méthode volumétrique d'évaluation quantitative de l'ortho-oxyquinoléine combinée au magnésium, par fixation de brome ; G. GLOMAUD (12) en 1934 employa la méthode volumétrique de BERG et, avec quelques modifications, réalisa une microtechnique.

L. VELLUZ (13), mettant à profit toutes ces données, établit une technique de microdosage du magnésium dans le sérum sanguin, méthode que nous avons adaptée à nos recherches.

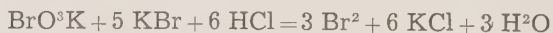
1° Principe de la méthode.

L'ion Mg traité par l'ortho-oxyquinoléine donne, en milieu ammoniacal, un précipité très insoluble d'ortho-oxyquinoléinate de magnésium ; dans ce précipité, on dose l'oxyquinoléine en ajoutant, après dissolution dans l'acide chlorhydrique, un excès d'une solution aqueuse titrée de bromure-bromate de potassium et en titrant l'excès de brome par iodométrie.

En milieu acide (chlorhydrique ou sulfurique), le brome donne avec l'ortho-oxyquinoléine, un dérivé de substitution dibromé d'après la réaction :



Le mélange bromure-bromate de potassium, en milieu acide, libère quantitativement son brome suivant la réaction :



La solution décinormale contient donc :

$$\frac{\text{BrO}^3\text{K}}{6 \times 10} = \frac{167,1}{60} = 2 \text{ gr. 785 de BrO}^3\text{K}$$

(12) *Journ. Pharm. Chim.*, 1934 (8^{me} série), **19**, 14.

(13) *Journ. Pharm. Chim.*, 1934 (8^{me} série), **19**, 340.

2° Réactifs employés.

— Solution d'acide chlorhydrique officinal à 5 % en volumes.

— Solution d'acide acétique cristallisable à 0,5 % en volumes.

— Solution d'oxalate d'ammonium approximativement N/10.

— Solution à 2 % récente d'ortho-oxyquinoléine dans l'alcool à 95°.

— Solution d'acide chlorhydrique officinal à 10 % en volumes.

— Solution de bromure de potassium à 40 %.

— Solution de bromure-bromate N/50 obtenue par dilution d'une solution N/10 de formule :

Bromate de potassium pur...	2 gr. 785
Bromure de potassium.....	50 gr.
Eau distillée (q. s. p.).....	1.000 cm ³

— Solution officinale d'ammoniaque.

— Solution d'iodure de potassium à 20 %.

— Hyposulfite de soude N/50 (dilution extemporanée de la solution N/10).

3° Mode opératoire.

On dessèche 5 cm³ de sérum (provenant de sang non hémolysé) pendant quatre à cinq heures à l'étuve à 105°-110° dans une capsule de platine à fond rond de 50 mm. de diamètre, puis on incinère le résidu au bec Bunsen, d'abord avec précaution, ensuite plus énergiquement jusqu'à l'obtention de cendres blanches. Après refroidissement, on verse dans la capsule 2 cm³ d'acide chlorhydrique officinal à 5 % et on évapore à sec au

bain-marie ou à l'étuve. Le résidu est repris avec soin par 5 cm³ d'acide acétique cristallisable.

La dissolution s'effectue facilement. Cette liqueur et les liqueurs de lavage de la capsule (cinq fois 1 cm³ d'eau distillée) sont recueillies en totalité, avec les précautions habituelles mais sans utiliser de lubrifiant, dans une fiole conique de 30 cm³ de capacité. On ajoute alors en suivant l'ordre et en agitant chaque fois :

2 cm³ d'oxalate d'ammonium (on laisse en contact 30 secondes), presque simultanément 2 cm³ de solution officinale d'ammoniaque et 0 cm³ 25 de solution alcoolique d'ortho-oxyquinoléine.

On bouche avec une boule de verre et on immerge la fiole pendant dix minutes dans un bain-marie bouillant. On filtre aussitôt à la manière usuelle, sans lubrifiant, sur tube à filtration 15 a G 4 d'ÉNA sectionné circulairement à 3 cm. au-dessus de la plaque de verre fritté. Le lavage de la fiole conique est effectué avec quatre portions successives de 5 cm³ de solution à 10 % d'ammoniaque officinale. Les parois internes du tube à filtration sont lavées avec une dernière portion de 5 cm³. Après avoir placé le tube à filtration sur un tube à essai épais, de fort diamètre (35 mm.) et à tubulure latérale pour l'aspiration, on redissout alors l'oxyquinoléinate de magnésium dans l'acide chlorhydrique officinal à 10 %. On utilise pour cela trois portions de 3 cm³ avec lesquelles on rince encore les parois de la fiole conique, puis une portion de 5 cm³ versée directement sur les parois du tube à filtration. Les liqueurs chlorhydriques ainsi recueillies dans le tube à essai sont additionnées de 5 cm³ de solution à 40 % de bromure de potassium et

5 cm³ exactement mesurés de la solution de bromure-bromate N/50. On agite à la main pendant une minute, puis on ajoute 5 cm³ de solution à 20 % d'iodure de potassium.

L'iode libéré est titré à l'aide d'une burette graduée au cinquantième de centimètre cube par l'hyposulfite de soude N/50, en présence d'empois d'amidon ajouté vers la fin du dosage.

Soit n cm³ le volume d'hyposulfite N/50 correspondant, dans un essai témoin, à 5 cm³ de solution de bromure-bromate (théoriquement $n=5$).

Soit n' cm³ le volume d'hyposulfite N/50 utilisé pour le dosage :

Mg du sérum (en mgr. par litre) = $(n-n') \times 12,16$.

Voici quelques chiffres obtenus par l'auteur sur des solutions titrées de magnésium, additionnées ou non de calcium et sur des sérums normaux ou additionnés d'une quantité connue de magnésium.

1° Solutions de magnésium.

Théorie :

0 mgr. 098 de Mg dans la prise d'essai.

Trouvé :

Sans calcium : 0,099 ; 0,097 ; 0,097 ; 0,100.

En présence de 0 mgr. 4 de Ca : 0,098 ; 0,099 ; 0,098 ; 0,098 ; 0,099.

En présence de 0 mgr. 8 de Ca : 0,102 ; 0,102 ; 0,102 ; 0,102.

2° Sérum normal de cheval.

Mg en mgr. ‰ :

17,8 ; 17,7 ; 17,5 ; 17,6 ; 17,6.

3° Sérums additionnés de magnésium.

Mg en mgr. ‰ :

Théorie : $37,2 = 17,6$ (sérum) + 19,6 (ajouté).

Trouvé : 38,6 ; 38,6 ; 38,6.

Théorie : $40,6 = 21,0$ (sérum) + 19,6 (ajouté).

Trouvé : 41,6.

Nous avons nous-même, à l'aide de cette technique, dosé le magnésium dans une solution titrée à 0 gr. 028 de Mg par litre.

Mg en mgr. ‰ :

Théorie : 28,2.

Trouvé : 27,7 ; 30,2.

Nous avons eu l'occasion d'appliquer cette micro-méthode au dosage du magnésium dans le sérum humain (14). Voici quelques-uns des chiffres trouvés chez l'homme normal (en mgr. par litre).

18 ; 20,6 ; 17,6 ; 18,4 ; 19 ; 18,1 ; 21,9.

SODIUM

Principe des deux méthodes employées.

Les deux microméthodes que nous avons employées successivement pour le dosage du sodium utilisent la réaction découverte par STRENG (1884) qui consiste à former, après élimination des phosphates, un acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium insoluble dans le milieu où il s'est formé. L'application de cette réaction à l'analyse quantitative en a été faite en 1923 par A. BLANCHETIÈRE. LAUDAT et de nombreux auteurs appor-

(14) Thèse Médecine J. VELLUZ. Lyon, 1934.

tèrent différentes modifications à la technique établie par A. BLANCHETIÈRE et en 1930, E. KAHANE, après une étude systématique de toutes ces différentes méthodes, établit une microtechnique dont l'emploi nous a permis d'effectuer des dosages plus rapides et aussi plus rigoureux que ceux donnés par la précédente.

I. — MÉTHODE DE A. BLANCHETIÈRE.

Au début de nos recherches, nous avons utilisé la technique établie par A. BLANCHETIÈRE (15) en mettant à profit les remarques faites par LAUDAT (16).

1° Réactif.

Le réactif proposé par A. BLANCHETIÈRE était obtenu en mélangeant parties égales de chacune des deux solutions suivantes :

Solution A :

Acétate d'urane.....	100 gr.
Acide acétique.....	60 gr.
Eau distillée (q. s. p.).....	1.000 cm ³ .

Solution B :

Acétate de magnésium sec.....	333 gr.
Acide acétique.....	60 gr.
Eau distillée (q. s. p.).....	1.000 cm ³ .

La liqueur d'urane étant insuffisamment stable, nous l'avons remplacée, suivant les indications de LAUDAT, par une solution d'acétate d'urane préparée à froid en prolongeant le contact et l'agitation du sel et de l'eau jusqu'à ce que la concentration soit égale à 7 gr. 33

(15) *Bull. Soc. Chim.*, 1923, **33**, 807.

(16) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, **10**, 757.

d'acétate d'urane pour 100 cm^3 ; l'expérience a montré que l'addition d'acide acétique n'était pas utile.

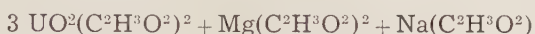
Quant à la solution magnésienne, elle renfermait 333 gr. d'acétate de magnésium sec pour 1.000 ; ce sel était préparé par saturation de MgO par une quantité suffisante d'acide acétique. Notre réactif précipitant comportait 50 cm^3 de solution magnésienne pour 100 cm^3 de solution uranique.

2° Mode opératoire.

Les liquides à analyser ont été traités de deux façons différentes : pour les uns, nous avons opéré directement sur le liquide primitif acidifié par une trace d'acide acétique ; pour les autres, plus ou moins riches en protéines, une défécation préalable s'imposait, nous les avons donc additionnés d'un volume égal d'acide trichloracétique à 20 % et après filtration et neutralisation par l'ammoniaque la précipitation du sodium était effectuée sur le liquide légèrement acidifié par l'acide acétique : un volume du liquide était d'abord additionné d'un volume égal de liqueur A pour éliminer les phosphates, puis, après repos et filtration, une certaine quantité de filtrat était additionnée de dix volumes du réactif ; la cristallisation était amorcée par friction avec une baguette de verre sur les parois du vase ; après une demi-heure de repos le précipité, recueilli sur deux filtres tarés, était lavé trois fois avec le réactif, puis trois fois avec de l'alcool à 95° .

Desséché ensuite à l'étuve à 105° , le précipité était pesé anhydre après une demi-heure au moins de séjour à l'étuve ; le poids trouvé, divisé par 60,43, donnait le

poids de sodium contenu dans la prise d'essai. En effet, le sel de STRENG ou acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium de formule :



a un poids moléculaire de 1390 soit 60,43 fois le poids du sodium qu'il contient.

Nous avons tout d'abord appliqué la méthode au dosage du sodium d'une solution décijnormale de soude et avons obtenu les poids de précipité suivants :

NaOH 0,1 N	Trouvé	Théorie	Erreur %
2 cm ³	0,277	0,278	—0,35
2 cm ³	0,276	0,278	—0,70
2 cm ³	0,286	0,278	+ 3,10
2 cm ³	0,282	0,278	+ 1,43

Les résultats, on le voit, sont satisfaisants. Cependant nous avons remarqué que pendant l'hiver le réactif cristallisait plus ou moins abondamment et que son emploi entraînait des erreurs par défaut, aussi, dans toutes nos séries de dosages, avons-nous chaque fois opéré sur une liqueur titrée de soude de façon à obtenir un témoin sûr.

II. — MÉTHODE DE E. KAHANE.

1° Réactif.

La composition du réactif est la suivante :

Acétate d'uranyle crist.....	32 gr.
Acétate de magnésium.....	100 gr.
Acide acétique.....	20 cm ³ .
Alcool à 90°.....	500 cm ³ .
Eau distillée (q. s. p.).....	1.000 cm ³ .

On prépare ce réactif en chauffant au bain-marie les

acétates de magnésium et d'uranyle avec l'acide acétique, l'alcool et environ 300 cm³ d'eau. La dissolution s'effectue rapidement. On laisse refroidir, on complète à 1.000 cm³ et on abandonne au repos. Le réactif peut être utilisé après quelques heures de repos et après filtration. Il est cependant avantageux de le laisser reposer le plus longtemps possible afin d'éliminer la majeure partie de l'excès de sodium apporté par les produits.

La conservation du réactif est indéfinie. La seule cause d'altération à redouter est l'action de la lumière qui tend à provoquer la réduction de l'ion uranyle jaune en ion uraneux vert. Il est bon, par conséquent, de conserver le réactif dans un flacon en verre coloré et autant que possible à l'obscurité.

2° Mode opératoire.

a) Défécation.

Nous avons utilisé le réactif défécant de A. GRIGAUT et A. BOUTROUX (17) dont la composition est la suivante :

Acétate d'uranyle.....	6 gr.
Acide acétique cristallisable....	2 cm ³ .
Eau (q. s. p.).....	100 cm ³ .

D'après les auteurs « ce réactif permet à la fois l'élimination des protéines et de l'excès des phosphates susceptibles de troubler les opérations ultérieures en même temps qu'il réalise les conditions optima de milieu requises par KAHANE pour la précipitation ».

A 1 cm³ de liquide, on ajoute 9 cm³ de réactif défécant, on agite pour homogénéiser et après cinq minutes de repos on filtre ou centrifuge.

(17) C. R. Soc. Biol., 1930, **104**, 872.

b) *Précipitation et lavage.*

La précipitation (18) est correcte quelle que soit la concentration en sodium de la liqueur à traiter et l'expérience démontre qu'il faut employer un minimum de 2 cm³ 5 de réactif par milligramme de sodium à précipiter et par centimètre cube de liqueur à traiter ; nous avons donc suivi rigoureusement ces données en utilisant, suivant le conseil de l'auteur, un volume de réactif correspondant au maximum de sodium vraisemblable quand nous ignorions le taux approximatif.

Nous avons donc mis dans un tube à centrifuger taré un certain volume de filtrat et ajouté un volume correspondant de réactif, en agitant le liquide une minute ou deux pendant que la précipitation se développe ; au bout d'une demi-heure, celle-ci est pratiquement totale ; nous avons alors centrifugé à grande vitesse, décanté, remis le précipité en suspension dans 5 à 7 cm³ de réactif précipitant, centrifugé de nouveau et lavé le précipité une fois à l'alcool à 95° ; une dernière centrifugation suivie d'une décantation qui s'opère aisément permet d'obtenir un précipité propre.

c) *Dessiccation et pesée.*

La dessiccation est rapide, en une demi-heure à 110° elle est achevée, mais la durée du séjour à l'étuve peut être prolongée sans inconvénient. Le précipité est ensuite pesé dans le tube même où l'on a effectué la précipitation et les lavages successifs ; un gramme de ce

(18) Aucun métal ne gêne la précipitation, seul le potassium gêne s'il se trouve en quantité 10 à 100 fois plus forte que celle du sodium.

précipité correspond à 0 gr. 015 de sodium, il peut être pesé sans précautions spéciales car il n'est pas sensiblement hygroscopique.

L'application de cette technique au dosage du sodium dans des solutions de chlorure de sodium de titre connu nous a donné les résultats suivants :

1° *Solution de NaCl à 4 gr. 32 par litre :*

Solution	Na trouvé	Na théorique	Erreur %
—	—	—	—
2 cm ³	3 mgr. 35	3 mgr. 40	—1,47
2 cm ³	3 mgr. 36	3 mgr. 40	—1,17

2° *Solution de NaCl à 10 gr. 53 par litre :*

Solution	Na trouvé	Na théorique	Erreur %
—	—	—	—
1 cm ³	4 mgr. 23	4 mgr. 14	+2,17
1 cm ³	4 mgr. 24	4 mgr. 14	+2,41

CHAPITRE II

Le milieu extérieur

Composition minérale de l'eau de mer.

Avant d'aborder l'étude du milieu intérieur des animaux marins, il était nécessaire d'analyser l'eau de mer où ils vivent au point de vue même des éléments minéraux que nous voulions déterminer dans le milieu intérieur.

De nombreux auteurs anciens ont étudié la composition minérale de l'eau de mer en dosant seulement les chlorures qui donnent une indication approchée des sels totaux puisqu'ils représentent 84 à 90 centièmes des sels dissous.

BIBRA (1851) et FORCHHAMMER (1865) ont déterminé les constituants minéraux les plus importants sur des échantillons prélevés dans les diverses régions océaniques et les tableaux d'analyses comparatives établis par ces auteurs et rapportés par R. QUINTON, dans son ouvrage « L'eau de mer milieu organique », montrent, en plus

d'une homogénéité réelle, une remarquable constance dans le rapport des corps dissous.

Par contre, la concentration saline des différentes mers isolées est très variable et le rapport des différents sels est loin d'être constant. « Autrefois, par exemple, la Baltique communiquait largement avec l'Océan et possédait à peu près la même concentration saline. Sa faune était uniquement marine. Aujourd'hui cette mer n'est plus en rapport avec l'Océan que par un étroit passage, le Sund. Sous l'influence de l'eau douce déversée en abondance par de grands fleuves, la Baltique s'est dessalée progressivement. Une partie de sa faune marine a été remplacée par des organismes d'eau douce. La salinité de cette mer diminue depuis les côtes du Danemark jusqu'au fond du golfe de Botnie. Devant Stockholm, il n'y a que 4 grammes de sels par litre et un demi-gramme seulement devant Tornéa » (19).

Nous avons déterminé la composition saline de l'eau de mer de la rade de Toulon, c'est-à-dire du lieu même où ont été pêchés nos différents animaux d'expérience ; les méthodes décrites précédemment nous ont permis de déterminer la teneur en potassium, sodium, calcium et magnésium et il nous a été facile dans ce cas de multiplier les essais et de vérifier ainsi la fidélité et la précision des techniques employées pour le dosage de ces quatre cations.

Analyse effectuée en 1930.

Nous n'avons, à cette époque, déterminé avec le résidu fixe, que la teneur en métaux alcalins : potassium et

(19) M. DUVAL. — *Thèse Sciences*. Paris, 1925.

sodium ; nous donnons dans le tableau suivant la moyenne de nos chiffres et les comparons avec ceux calculés d'après GAUTIER-DELÉPINE, ils sont exprimés en grammes par litre.

Eau de la Méditerranée.

Calculé d'après GAUTIER-DELÉPINE		Trouvé
Résidu fixe à 100°	41,64	43,10
Potassium	0,486	0,462
Sodium	10,70	10,71

A cette même époque, nous avons eu l'occasion d'analyser l'eau de l'Océan Atlantique prélevée au large de la Pointe Saint-Mathieu et nous avons trouvé les résultats suivants exprimés en grammes par litre, que nous indiquons parallèlement à ceux de GAUTIER-DELÉPINE.

Eau de l'Océan Atlantique.

Calculé d'après GAUTIER-DELÉPINE		Trouvé
Résidu fixe à 100°	35,44	39,60
Potassium	0,398	0,346
Sodium	9,87	10,05

Nous trouvons pour le résidu fixe, dans les deux cas, une teneur supérieure à celle donnée par les auteurs ; peut-être nos prélèvements ont-ils été faits plus près de la côte ?

Analyse effectuée en 1935.

Un nouveau séjour à la Station Maritime de Biologie de Tamaris nous a permis d'effectuer alors une nouvelle analyse de l'eau de mer qui comprenait cette fois le

dosage des métaux alcalino-terreux : calcium et magnésium.

Les résultats suivants sont une moyenne, pour chaque élément, d'au moins quatre dosages concordants.

Potassium.

Quatre essais ont été effectués sur 3 cm³ d'eau de mer et ont donné les chiffres suivants :

1 mgr. 309 ; 1 mgr. 319 ; 1 mgr. 313 ; 1 mgr. 319,
soit une moyenne de 0 gr. 438 par litre.

Sodium.

Après dilution de l'eau de mer, chaque essai a porté sur un volume de 0 cm³ 1 et les poids trouvés d'acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium ont été les suivants :

79 mgr. 5 ; 80 mgr. ; 78 mgr. ; 78 mgr. 5,
soit un poids de sodium de 11 gr. 85 par litre.

Calcium.

Chaque essai final correspondait à 0 cm³ 32 d'eau de mer et nous avons trouvé les poids de calcium ci-après :

0 mgr. 130 ; 0 mgr. 128 ; 0 mgr. 126 ; 0 mgr. 131,
soit une moyenne de 0 gr. 403 par litre.

Magnésium.

Nous avons fait deux dilutions différentes ; nos deux premiers essais correspondant à 0 cm³ 25 d'eau de mer nous ont donné :

0 mgr. 368 et 0 mgr. 357 de magnésium,
soit 1 gr. 45 par litre ;

les deux autres essais sur 0 cm³ 10 d'eau de mer nous ont donné :

0 mgr. 146 et 0 mgr. 140 de magnésium, soit 1 gr. 43 par litre ; c'est-à-dire une moyenne de 1 gr. 44 par litre.

Ces résultats sont exprimés en grammes et milliéquivalents par litre dans le tableau suivant :

	En grammes	En milliéquivalents
K	0,438	11,2
Na	11,85	515
Ca	0,403	20,1
Mg	1,44	118
Total des cations....		664,3

Ces chiffres peuvent être rapprochés de ceux donnés par L. ESPIL qui, dans le même temps, étudiait l'eau de mer du bassin d'Arcachon (20) ; voici rassemblées dans le tableau ci-après quelques analyses qu'il a effectuées en septembre et octobre 1935 sur différents échantillons.

Millièmes d'ions-grammes par litre.

	1	2	3	4	5
Cl	538	556	562	516	496
SO ⁴	57	57,3	57,8	53,7	55,4
CO ²	2,1	2,7	2,6	2,3	2,1
Total des anions.....	597,1	616,0	622,4	572,0	553,5
Ca	23	22,8	24,4	21,4	20,5
Mg	109,2	104	110	103,1	100
K	11,4	11,6	11,2	10,7	10,2
Na	457	480	480	434,8	419,8
Total des cations.....	600,6	618,4	625,6	570,0	550,5

(20) *Bull. Soc. Chim.*, 1935 (5^{me} série), 2, 1012.

Le total des cations en Méditerranée serait sensiblement supérieur à celui de l'Océan, mais les rapports ioniques coïncident puisque nous avons trouvé :

$$\frac{\text{Mg}}{\text{Ca}} = 5,8 \quad \frac{\text{Mg}}{\text{K}} = 10,5 \quad 10^3 \frac{\text{K}}{\text{Na}} = 21,7 \quad \frac{\text{Na}}{\text{K}} = 46$$

et d'après L. ESPIL ces mêmes rapports sont les suivants pour l'Océan :

$$\frac{\text{Mg}}{\text{Ca}} = 5,3 \quad \frac{\text{Mg}}{\text{K}} = 11,2 \quad 10^3 \frac{\text{K}}{\text{Na}} = 21,6 \quad \frac{\text{Na}}{\text{K}} = 45$$

CHAPITRE III

Le milieu intérieur

Le but de nos recherches a été de déterminer la teneur du milieu intérieur en ses principaux constituants minéraux ainsi que le rapport de leurs concentrations respectives comparé à celui des concentrations des mêmes éléments dans le milieu extérieur.

C'est Léon FRÉDÉRICQ (21) qui étudia le premier l'influence du milieu extérieur sur la concentration moléculaire et la teneur en sels du milieu intérieur et des tissus des animaux aquatiques

Dans une note publiée en 1882 dans les *Bulletins de l'Académie Royale de Belgique*, Léon FRÉDÉRICQ remarque :

1° Que le sang des Invertébrés qui vivent dans l'eau de mer (Crabes, Homards, Poulpes) a le même goût que cette dernière.

(21) *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 15 février 1936.

2° Que le sang des Crabes qui vivent dans l'eau saumâtre présente un goût moins salé que celui des Crabes qui vivent dans l'eau de mer.

3° Que le sang des Poissons de mer est moins salé que l'eau de mer.

4° Que le sang de l'Ecrevisse est peu salé.

Ces observations sont une première ébauche de la classification qu'il fera plus tard des êtres marins d'après leur milieu intérieur.

En 1884, il étudie l'influence des variations de concentration de l'eau de mer sur le milieu intérieur des Crabes et démontre la dépendance de ce dernier par rapport au milieu extérieur en ce qui concerne les sels.

En 1890, il exécute une nouvelle série d'expériences qui confirment sa manière de voir : dialysant du sang de Crabe en présence d'eau de mer, il n'observe aucune modification de sa concentration saline.

Cet équilibre osmotique est démontré par BORTAZZI en 1897 dans son travail « La pression osmotique du sang des animaux marins » où il détermine l'abaissement cryoscopique de différents milieux intérieurs en même temps que celui du milieu où ils vivent. L'année suivante (1898), Léon FRÉDÉRICQ adopte lui-même la méthode cryoscopique pour mesurer le Δ du sang d'Ecrevisse et constate que le sang de cet animal a une concentration moléculaire notablement plus élevée que celle de l'eau douce. Le cas des animaux d'eau douce, dont le milieu intérieur a une concentration moléculaire plus élevée que celle du milieu extérieur, est donc inverse de celui des Poissons osseux marins.

Vers la même époque, R. QUINTON dans son ouvrage :

« L'eau de mer milieu organique », soutenant sa théorie marine du milieu intérieur (22), étudie la partie purement minérale de l'eau de mer et des plasmas, la seule fondamentale, dit-il. Pour cet auteur, la détermination des chlorures à l'état de chlorure de sodium suffit à donner une indication très approchée des sels totaux ; c'est donc le chlore exprimé arbitrairement en chlorure de sodium qu'il dose dans le milieu vital d'un grand nombre d'animaux.

Nous prendrons comme conclusions à ces premières données sur le milieu intérieur celles que LÉON FRÉDÉRICQ en 1922 (23) résume de la façon suivante : « Si l'on considère l'ensemble du règne animal, on voit qu'aux débuts de la vie le milieu intérieur se confond avec le milieu extérieur dont il subit les fluctuations tant au point de vue de la concentration moléculaire que de la teneur saline (stade A). Puis au stade B, la concentration moléculaire globale des liquides ou des solides reste sous la dépendance du milieu extérieur, mais s'affranchit de son influence au point de vue de la teneur en sels. Enfin, au stade C, l'indépendance est complète entre le milieu extérieur et le milieu intérieur tant par rapport à la concentration moléculaire qu'à la teneur saline. L'organisme s'est isolé à ces deux points de vue entièrement du milieu extérieur dont il ne subit plus les vicissitudes. »

(22) A savoir : Constance du milieu marin originel comme milieu vital des cellules à travers la série animale.

(23) *Arch. Intern. Physiol.*, 1922, **19**, 309.

*
* *

Ainsi, pendant toute une première période, on s'est intéressé à la teneur saline globale du milieu intérieur en ne considérant que le chlorure de sodium ou l'abaissement du point de congélation ; on déterminait de cette façon la valeur de la pression osmotique du milieu intérieur compatible avec la vie des cellules.

Mais les travaux de J. LÆB ont montré que la nature des sels avait une grande importance et que pour un certain rapport des quantités des divers cations une solution présentait une toxicité minima. Il était donc intéressant de déterminer la teneur des différents milieux intérieurs en leurs principaux cations et d'étudier leurs rapports comparés à ceux du milieu ambiant ; nous avons essayé de le faire en étudiant le milieu intérieur de l'animal vivant à l'état de nature dans une Station déterminée.

*
* *

C'est à la Station Maritime de Biologie de Tamaris-sur-Mer que nous avons étudié, il y a déjà une dizaine d'années, le milieu intérieur de quelques Invertébrés marins au point de vue de sa teneur en cations alcalins. Nos résultats, groupés dans le tableau suivant et exprimés en grammes par litre, représentent une moyenne d'au moins quatre déterminations pour le potassium et deux pour le sodium (24).

(24) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 133.

PREMIER GROUPE

	Eau de mer	Holothuria tubulosa	Aplysia fasciata	Phallusia mamillata	Pinna nobilis
Résidu sec.....	43,10	44,0	44,0	41,70	46,40
Résidu au rouge..	33,50	34,90	35,20	30,60	34,0
Perte au rouge...	9,60	9,10	8,80	11,10	12,40
K	0,462	0,550	0,542	0,515	0,495
Na	10,71	10,10	10,37	10,35	10,21

DEUXIEME GROUPE

	Maia squinado	Carcinus maenas	Octopus vulgaris	Sepia offinialis	S. officinalis (liq. de l'oeil)
Résidu sec.....	60,3	88,40	138,70	144,50	41,50
Résidu au rouge..	33,3	34,50	30,0	28,50	33,50
Perte au rouge...	27,0	53,90	108,70	116,0	8,0
K	0,752	1,16	0,892	0,717	0,813
Na	10,05	9,60	10,75	11,50	10,45

Dans les liquides du premier groupe qui louchissent à peine par l'acide trichloracétique, le sodium a été dosé directement après légère acidification par l'acide acétique.

Les liquides du deuxième groupe, plus ou moins riches en protéines, ont été préalablement déféqués par l'acide trichloracétique, neutralisés par l'ammoniaque et acidifiés légèrement par l'acide acétique.

Nous avons utilisé la technique de BLANCHETIÈRE modifiée par LAUDAT et avons obtenu un chiffre régulièrement inférieur de 10 % environ au chiffre trouvé plus tard par la technique plus précise de KAHANE.

Le potassium a été dosé, dans les liquides peu albumineux, sur une prise d'essai de 1 cm³ dilué à 4 cm³ avec de l'eau faiblement acétique. Pour les autres, nous avons

opéré sur le filtrat trichloracétique neutralisé par du carbonate de lithine pur, exempt de potassium, et ramené à une légère acidité acétique (25).

Le tableau montre que la concentration saline globale des liquides étudiés est très ou assez voisine de celle de l'eau de mer, ce que d'ailleurs de nombreux travaux antérieurs nous avaient fait prévoir ; mais nous remarquons de plus que le taux des protéines chez les animaux du deuxième groupe est notablement élevé, principalement chez les Céphalopodes où il dépasse 100 grammes par litre (26).

Ces Invertébrés marins supérieurs semblent concentrer le potassium dans leur milieu intérieur tandis que le sodium s'y trouve au même taux que dans l'eau de mer.

C'est pour vérifier cette hypothèse et pour étudier les variations individuelles que nous avons repris ce travail quelques années plus tard en effectuant parallèlement le dosage des cations bivalents : calcium et magnésium chaque fois que la quantité de matière première nous l'a permis.

Nous exposerons nos résultats en adoptant le plan suivant :

Crustacés :

I. — Crustacés d'eau douce (Ecrevisse).

II. — Crustacés marins (Crabe).

(25) Ces dosages de sodium et de potassium ont été effectués sur 1 cm³ ou même parfois 0 cm³ 5 d'un liquide moyen provenant d'un lot de plusieurs animaux.

(26) E. PORA fera plus tard la même remarque. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **121**, 291.

Mollusques :

I. — Mollusques terrestres (Escargot).

II. — Mollusques marins :

a) Céphalopodes (Poulpe, Seiche) ;

b) Lamellibranches (Pinna).

Tuniciers :

Ascidie.

Poissons :

I. — Sélaciens (Roussette, Torpille).

II. — Téléostéens (Congre).

CRUSTACÉS

I. — Crustacés d'eau douce.

Ecrevisse (*Astacus fluviatilis*).

1° Nos résultats.

Nous avons étudié l'hémolymphe d'Ecrevisse. Nos déterminations ont d'abord été effectuées sur une première série de quatre lots d'animaux maintenus dans l'eau du Rhône. Sur une prise d'essai de 10 cm³ d'hémolymphe, nous avons déterminé l'extrait sec ; après calcination de cet extrait à l'aide d'un bec Bunsen ordinaire (au rouge sombre et jusqu'à disparition de toute trace de charbon), nous avons obtenu le poids de cendres. Ces dernières, traitées comme l'indiquent VELLUZ et DESCHASSEAUX, ont servi en partie au dosage du calcium après avoir été remises en solution acétique sous un volume égal à celui de l'hémolymphe primitive (prises d'essai : 0 cm³ 25 à 0 cm³ 50). Le reste, 8 cm³ de solution acétique,

débarrassé du calcium par action de 2 cm³ de solution d'acide oxalique 0,1 N, a été utilisé pour le dosage du magnésium sous forme de pyrophosphate de magnésium.

Quant aux cations alcalins, ils ont été déterminés comme dans les liquides précédents.

Nous réunissons dans le tableau suivant les chiffres obtenus exprimés en grammes par litre d'hémolymph.

TABLEAU I

Résultats obtenus sur quatre lots d'animaux.

	I	II	III	IV
Extrait sec....	34,40	60,50	72,60	70,60
Cendres	5,30	»	5,70	5,50
K	0,136	»	0,143	0,140
Na	3,22	»	3,60	3,28
Ca	0,610	0,687	0,688	0,686
Mg	0,174	»	»	0,156

Il nous a été possible, un peu plus tard, d'effectuer les mêmes dosages sur des individus séparés en employant la technique de KAHANE pour le sodium et celle de VELLUZ pour le magnésium. Les chiffres trouvés que nous donnons ci-après sont sensiblement différents des précédents.

TABLEAU II

Résultats obtenus sur des animaux séparés.

	I	II	III	IV
Extrait sec....	72,0	41,0	37,0	36,1
Cendres	4,66	»	2,72	»
K	0,200	»	0,174	»
Na	»	»	»	»
Ca	0,583	0,470	0,420	0,540
Mg	»	0,061	»	0,070

	V	VI	VII	VIII
Extrait sec....	41,0	35,5	71,0	»
Cendres	4,60	»	7,3	»
K	0,194	»	0,226	0,175
Na	»	4,40	»	4,20
Ca	0,433	»	»	»
Mg	»	0,101	»	»

Rapports ioniques :

Na	K	Mg	Mg
$\frac{\text{Na}}{\text{K}} = 41,4$	$\left\{ \begin{array}{l} 0,17 \\ 0,21 \end{array} \right.$	$\frac{\text{Mg}}{\text{K}} ?$	$\left\{ \begin{array}{l} 0,21 \\ 0,21 \end{array} \right.$
	Ca		Ca

Nous avons cherché alors si l'origine des animaux influençait la composition du milieu intérieur de l'Ecrevisse et nos recherches ont porté sur des animaux originaires soit d'Italie (I), soit du Rhin (R) et achetés aux Halles. Maintenues dans l'eau du Rhône, ces Ecrevisses paraissaient toutes très vivantes ; dans le tableau suivant, nous réunissons les chiffres trouvés sur ces animaux isolés.

TABLEAU III

Extrait sec :

I...	33,25	—	84,60	—	64,10	—	48,60	—	48,0	—	60,0
R..	31,0	—	38,30	—	22,50						

Potassium :

I...	0,247	—	0,240	—	0,220	—	0,195	—	0,214	—	0,188
R..	0,156	—	0,195	—	0,203	—	0,150	—	0,182	—	0,162

Sodium :

I...	4,65	—	4,65	—	4,05	—	4,20	—	2,85	—	2,70	—	2,75
R..	3,77	—	4,20	—	3,97	—	3,83	—	4,12	—	3,90		

Calcium :

I...	0,360	—	0,440	—	0,520	—	0,488
R..	0,470	—	0,352	—	0,460		

Magnésium :

I... 0,098 — 0,100 — 0,088

R... 0,060 — 0,042

2° Résultats donnés par les auteurs.

A. DRILHON-COURTOIS, étudiant la régulation de la composition minérale de l'hémolymph des Crustacés (27), expose ses résultats sur le milieu intérieur de l'Ecrevisse normale dans le tableau suivant :

MILIEU INTÉRIEUR DE L'ECREVISSE NORMALE.

Teneurs exprimées en grammes par litre.

	Mai-Juin		Janvier-Février	
	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
Sodium	4,88	5,07	3,97	4,02
Potassium	0,160	0,195	0,167	0,200
Calcium	0,632	0,560	0,686	0,610
Mat. protéiques..	43,0	37,0	44,3	39,2

La même année E. HUF (28), déterminant les principaux ions dans le sang de quelques Ecrevisses mâles, donne les concentrations suivantes (mgr./gr.) chez *Potamobius astacus* (1-3) et *Potamobius leptodactylus*, cinq jours et demi après la mue.

Animal	Cl	Na	K	Ca	Mg	Poids en gr.
1	7,08	4,24	0,287	0,278	0,033	112 gr.
2	7,15	4,35	0,328	0,313	0,038	110 gr. 5
3	6,95	4,21	0,297	0,328	0,040	74 gr. 4
4	7,08	4,10	0,673	0,327	0,046	58 gr.
5	6,37	3,90	0,398	0,314	0,054	58 gr.

(27) *Ann. de Physiol. et de Physicochimie Biologique*, 1934, **10**, n° 3.

(28) *Pflügers Arch.*, 1934, **235**, 129.

Enfin M. BOGUCKI (29) compare la composition minérale de l'hémolymph normale d'Ecrevisse avec celle de l'eau douce dans laquelle les animaux ont séjourné :

	Cl	Ca	Mg	Na	K
Hémolymph	6,21	0,48	0,06	3,49	0,11
Eau douce.....	0,017	0,059	0,006	0,015	0,003

Dans leur important travail que nous aurons souvent l'occasion de citer, A. BETHE et E. BERGER (30), étudiant la composition minérale des différentes sortes de sang, ont trouvé pour *Astacus fluviatilis* les chiffres suivants :

Na : (3 ?) ; K : 0,141 ; Ca : 0,420.

La concentration globale du milieu intérieur de l'Ecrevisse est donc très variable ; l'analyse du liquide provenant d'un lot d'animaux donne (tableau I) des teneurs organiques variant du simple au double, tandis que les cendres restent sensiblement constantes ; mais ces dernières varient aussi suivant les individus (tableau II).

Les rapports des différents cations ne sont eux-mêmes pas constants puisque nous trouvons les résultats suivants :

$\frac{\text{Na}}{\text{K}}$	{	par individu : 44 ; 37 ; 40 ; 38 ; 37.
	/	d'après les moyennes : 30 ; 38.
$\frac{\text{K}}{\text{Ca}}$	{	par individu : 0,17 ; 0,19.
	/	d'après les moyennes : 0,24 ; 0,21.
$\frac{\text{Mg}}{\text{K}}$	{	par individu : 1,2 ; 1,13.
	/	d'après les moyennes : 1,4 ; 0,95.
$\frac{\text{Mg}}{\text{Ca}}$	{	par individu : 0,21 ; 0,38.
	/	d'après les moyennes : 0,20 ; 0,34.

(29) Arch. Intern. Physiol., 1932, **35**, 197.

(30) Pflügers Archiv., 1931, **227**, 571.

Seul le rapport Na/K peut être rapproché de celui de l'eau de mer.

II. — Crustacés marins.

Crabe (*Carcinus maenas*).

1° Nos résultats.

Les prélèvements du milieu intérieur des animaux marins que nous allons étudier ont été faits à la Station Maritime de Biologie de Tamaris en 1935 sous la direction de M. le Professeur CARDOT.

Nous donnons dans le tableau suivant les résultats obtenus sur le milieu intérieur du Crabe.

MILIEU INTÉRIEUR DU CRABE (*Carcinus maenas*).

	Na	K	Ca	Mg
	—	—	—	—
1 ^{er} Animal...	13,20	0,711	0,650	0,674
2 ^{me} Animal...	13,27	»	0,530	0,691
2 Animaux...	13,60	0,560	0,575	0,615
1 ^{er} Lot.....	13,83	0,709	0,692	0,520
2 ^{me} Lot.....	13,42	0,540	0,638	0,600
Eau de mer.	11,85	0,438	0,403	1,44

Ces chiffres sont une moyenne de plusieurs dosages que nous avons effectués soit sur des lots d'animaux, soit sur un animal isolé quand la quantité d'hémolymphé était suffisante.

C'est la règle que nous suivons tout le long de ce travail et nos résultats sont toujours exprimés en grammes par litre de liquide. Pour permettre une comparaison plus facile, nous répétons chaque fois la composition de l'eau de mer.

Les rapports ioniques déduits des chiffres précédents sont les suivants :

	Na/K	K/Ca	Mg/K	Mg/Ca
	—	—	—	—
1 ^{er} Animal...	32	0,56	3,04	1,7
2 ^{me} Animal...	»	»	»	2,1
2 Animaux...	41	0,51	3,5	1,7
1 ^{er} Lot.....	33	0,52	2,3	1,2
2 ^{me} Lot.....	42	0,43	3,5	1,5
Eau de mer.	46	0,56	10,5	5,6

2° Résultats donnés par les auteurs.

C'est encore à un travail publié par A. DRILHON-COURTOIS (31) sur le milieu intérieur du Crabe sacculiné que nous empruntons les chiffres suivants trouvés dans l'analyse de l'hémolymph des Crabes normaux (*Carcinus maenas*).

Na	K	Ca	Mg
—	—	—	—
13,5	0,660	0,600	0,584

Le milieu intérieur de ce même Crabe a aussi été étudié par K. BIALASZEWICZ (32) qui donne en même temps la composition minérale de l'hémolymph de *Maja squinado*.

Voici ses résultats comparés à ceux qu'il trouve pour l'eau de mer :

CONCENTRATION DES COMPOSANTS MINÉRAUX EN MGR. PAR CM³.

	K	Ca	Mg	K/Ca
	—	—	—	—
Carcinus maenas.	»	0,611	1,190	»
Maja squinado...	0,523	0,493	1,490	0,54
Eau de mer.....	0,484	0,513	1,505	0,48

(31) C. R. Ac. Sc., 1936, **202**, 981.

(32) Arch. Intern. Physiol., 1931, **35**, 98.

En analysant les cendres de l'hémolymph de *Maja squinado*, cet auteur obtient les chiffres suivants :

K : 0,508 ; Ca : 0,519 ; Mg : 1,582.

Le milieu intérieur de ce Crabe aurait donc la même concentration en magnésium que l'eau de mer, c'est-à-dire une concentration environ trois fois plus forte que celle que nous trouvons pour *Carcinus maenas*.

Nos résultats pour ce dernier animal se rapprochent d'ailleurs de ceux de A. BETHE et E. BERGER (33) qui obtiennent les chiffres suivants pour *Carcinus maenas* dans des lieux différents.

	Na	K	Ca	Mg
	—	—	—	—
Naples (1928)....	»	0,561	0,566	0,643
Helgoland (1931).	13,27	0,293	0,498	0,646

Il a été particulièrement intéressant de rapprocher de nos résultats les chiffres obtenus par BOGUCKI (34) sur le milieu intérieur d'un petit Crustacé, l'isopode *Mesidotea entomon*, vivant communément sur les côtes polonaises de la Baltique. Nous rapportons ci-après la composition minérale du sérum d'un lot de ces petits Crustacés, comparée à celle de l'eau de la Baltique.

	Sérum	Eau de la Baltique	Méditerranée
	—	—	—
Na	4,64	1,88	11,85
K	0,24	0,07	0,438
Ca	0,50	0,11	0,403
Mg	0,28	0,24	1,44

(33) *Pflügers Archiv.*, 1931, **227**, 571.

(34) *Archiv. Intern. Physiol.*, 1932, **35**, 197.

Les rapports ioniques sont les suivants :

Na/K	33,0	44,0	46,0
K/Ca	0,20	0,32	0,56
Mg/K	3,7	11,5	10,5
Mg/Ca	0,92	3,6	5,6

Ainsi, dans l'hémolymph des Crustacés marins tels que *Carcinus mœnas*, les cations Na et Ca sont à une concentration sensiblement plus forte que dans l'eau de mer, le potassium y est nettement plus concentré, mais les rapports de ces cations sont à peu près identiques à ceux qu'ils ont dans le milieu extérieur ; seul le magnésium y est environ deux fois moins concentré, sauf pour *Maja squinado*.

*
* *

De cette étude sur la composition minérale de l'hémolymph des Crustacés, nous pouvons conclure que le rapport Na/K a des valeurs oscillant autour de 37 aussi bien pour les Crustacés d'eau douce que pour les marins ; le rapport K/Ca, d'une valeur moyenne de 0,50 pour *Carcinus mœnas* et voisin de celui de l'eau de mer, est égal à 0,20 environ chez l'Ecrevisse ; il a la même valeur chez *Mesidotea*. D'après BOGUCKI, ce dernier serait une forme de passage entre les Crustacés marins et les Crustacés d'eau douce ; son milieu intérieur est nettement hypertonique par rapport au milieu ambiant.

MOLLUSQUES

I. — Mollusques terrestres.

Escargot (*Helix pomatia*).

1° Nos résultats.

C'est par la détermination de la teneur en métaux alcalins du sang de l'Escargot (*Helix pomatia*) que nous avons commencé notre étude sur le milieu intérieur (35). L'analyse faite en décembre, c'est-à-dire sur l'hémolymphe d'Escargot en hibernation a donné les chiffres suivants :

K ‰	Na ‰	Na ——— — 10,5 K
0,172	1,06	
0,173	1,10	
0,169	1,06	
0,175	1,05	

Nous avons trouvé alors du potassium lié aux protides, ce qui portait en moyenne à 0 gr. 360 par litre le potassium total de l'hémolymphe ; mais, dans nos recherches ultérieures, nous n'avons pas retrouvé cette forme de potassium et avons pu nous rendre compte que nos précédentes déterminations avaient été faussées par l'emploi d'un carbonate de lithine renfermant 37 mgr. 5 de potassium p. 100 gr.

Poursuivant nos recherches sur la composition minérale du sang des *Helix* (36), nous avons déterminé les

(35) C. R. Soc. Biol., 1930, **103**, 1119.

(36) C. R. Soc. Biol., 1930, **106**, 183.

proportions de potassium, de sodium et de calcium du sang de *H. pisana* et de *H. aperta* recueillis au cours d'une pluie d'automne (37). Ces recherches ont été complétées par la détermination de l'extrait sec et des cendres. Voici les chiffres obtenus en grammes rapportés à un litre d'hémolymphe.

	H. pisana	H. aperta
Extrait sec à 100°.....	12,66	17
Cendres	9,20	6 (environ)
Potassium	{ 0,190 0,188	{ 0,152 0,145
Sodium	{ 1,90 1,82 1,90	{ 1,81 1,90 1,82
Calcium	0,28	0,212

Ainsi, on constate que deux *Helix* d'espèces différentes pris au même moment dans la même station peuvent avoir des concentrations sanguines différentes et un taux de cendres variable. On remarque de plus que l'espèce la mieux pourvue en substances minérales (*H. pisana*) est, par contre, celle dont l'extrait sec a la plus faible valeur.

Il semble que la concentration saline du sang subit l'influence du milieu où vit l'animal : *H. pisana* se trouvant dans les endroits secs et ensoleillés, *H. aperta* restant au contraire pendant l'été enfoui dans le sol et ne sortant que la nuit ou pendant la pluie.

(37) A. ARVANITAKI et H. CARDOT, dans une étude des solutions équilibrées pour le cœur des *Helix*, ont montré qu'il existe une concordance assez satisfaisante entre les données de l'expérimentation physiologique et les investigations d'ordre chimique que nous avons faites sur l'hémolymphe de ces *Helix*. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **106**, 185.
— *Journ. Physiol. et Path. Gén.*, 1932, **30**, 577.

Il restait à étudier l'hémolymphhe d'*Helix* à différentes saisons, nous avons donc analysé le sang d'*Helix pomatia* aux différentes époques de l'année où se produit un changement de vie.

Voici les résultats obtenus pendant l'année 1931.

ANALYSE DE L'HÉMOLYMPHE D'*Helix pomatia*.

	Extrait sec	Cendres	Na	K	Ca	Mg
	—	—	—	—	—	—
5 Février....	36,30	6,65	»	0,209 0,203 0,212	0,468 0,434	0,550
24 Février....	35,70	6,50	2,33	0,187 0,195 0,190	0,512 0,506 0,520	0,405 0,470
19 Mars.....	42,0	7,34	»	»	0,521 0,521	0,550
22 Avril.....	37,90	7,15	2,40	0,258 0,260 0,255	0,510 0,520	0,461
9 Juin.....	46,30	6,95	»	0,191 0,182 0,185	0,575 0,579	0,416
Fin novembre.	31,50	5,77	»	0,152 0,148 0,156	»	»

Les rapports ioniques sont les suivants :

	Na/K	K/Ca	Mg/K	Mg/Ca
	—	—	—	—
5 Février....	»	0,23	4,1	1,0
24 Février....	20,6	0,18	3,6	0,7
22 Avril.....	16,0	0,25	2,9	0,73
9 Juin.....	»	0,16	3,6	0,6

Pour le dosage du sodium, nous avons rencontré certaines difficultés et nous avons dû faire comparative-ment un dosage sur une solution témoin, car nous avons observé un déficit dû à l'affaiblissement de la concentration du réactif précipitant. Nous avons donc fait les corrections correspondantes, cependant nous donnons nos chiffres avec une certaine réserve.

L'examen des résultats précédents montre qu'une concentration globale minima de l'hémolymph se rencontre au début de l'hibernation et n'augmente guère qu'à la fin de cette période pour atteindre son maximum en juin. C'est aussi pendant l'hibernation que le taux des cendres est le plus bas ; ses variations ont une moins grande ampleur que celles de l'extrait sec et ne coïncident pas forcément avec elles.

2° Résultats donnés par les auteurs.

La composition minérale du sang d'Escargot a été très peu étudiée. QUINTON, dans son livre « L'eau de mer, milieu organique », donne une analyse sommaire de l'hémolymph de *Helix pomatia* prélevée au mois d'août :

Matière organique....	22 gr. 89 par litre.
Matière minérale.....	4 gr. 25 par litre.
Chlorures	4 gr. 09 par litre.

CLEMENTI (38), mesurant le Δ de l'hémolymph, trouve aussi une concentration moléculaire maximum en juin.

M. DUVAL (39) obtient cette concentration maximum chez l'Escargot d'été inerte, rentré dans sa coquille ; elle

(38) Cité par M. DUVAL : *Ann. Physiol. et Physicochimie Biologique*, 1930, **6**, 346.

(39) *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **185**, 1620.

atteint son taux le plus bas chez l'Escargot d'été actif se promenant. La teneur en chlorure de sodium que l'auteur détermine en même temps subit des variations parallèles qui s'étendent de 6 gr. à 3 gr. 60 par litre.

Dans sa thèse, A. CHARNOT (40) détermine le taux de calcium et de magnésium par des macrodosages qui lui donnent les résultats suivants par litre l'hémolymph.

	En hibernation	En vie active
Ca	0,314	0,225
Mg	0,330	0,239

Nous rapprochons de ces quelques données les chiffres de E. HUF (41) obtenus dans l'analyse du liquide intérieur de *Limnée* (mollusque d'eau douce).

Analyse des principaux ions dans le liquide intérieur de Limnée.

Na : 1,09 ; K : 0,108 ; Ca : 0,122 ; Mg : 0,116.

Les rapports ioniques sont les suivants :

$$\frac{\text{Na}}{\text{K}} = 17 \quad \frac{\text{K}}{\text{Ca}} = 0,45 \quad \frac{\text{Mg}}{\text{K}} = 3,4 \quad \frac{\text{Mg}}{\text{Ca}} = 1,57$$

et sont à peu près comparables à ceux obtenus pour l'Escargot.

II. — Mollusques marins.

Nous en avons étudié trois représentants appartenant à deux classes différentes : les Lamellibranches et les Céphalopodes.

(40) Thèse Sciences. Lyon, 1925.

(41) *Pflügers Arch.*, 1934, **235**, 129.

A. — LAMELLIBRANCHES : *Pinna nobilis*.

Nous avons analysé le milieu intérieur de trois animaux différents et avons trouvé les résultats ci-après :

Liquide intérieur de Pinna nobilis.

	I	II	III	Eau de mer	Chiffres de Bialasiewicz (42)
Na	12,70	12,40	»	11,85	»
K	0,559	0,491	0,490	0,438	0,643
Ca	0,480	0,453	0,457	0,403	0,608
Mg	1,45	1,45	1,30	1,44	1,44

Les rapports ioniques sont les suivants :

Na/K	38,0	43,0	»	46,0	»
K/Ca	0,58	0,55	0,54	0,56	0,54
Mg/K	8,2	9,2	8,4	10,5	7,2
Mg/Ca	4,9	5,1	4,6	5,6	3,8

Ces rapports sont voisins de ceux de l'eau de mer surtout pour l'animal n° II.

B. — CÉPHALOPODES.

C'est le milieu intérieur du Poulpe (*Octopus vulgaris*) et de la Seiche (*Sepia officinalis*) que nous avons étudié ; le plus souvent, il nous a été possible d'effectuer le dosage des quatre cations sur un seul animal.

Le tableau suivant réunit les résultats trouvés :

(42) *Arch. Intern. Physiol.*, 1933, **36**, 41.

MILIEU INTÉRIEUR DE *Sepia officinalis* ET DE *Octopus vulgaris*.

	Eau de mer	<i>Sepia officinalis</i>					<i>Octopus vulgaris</i>	
		I	II	III	IV	V	I	II
				Deux animaux.				
Na	11,85	11,92	11,50	11,58	11,43	11,36	11,36	11,96
K	0,438	0,935	0,852	0,780	0,800	0,692	0,868	0,782
Ca	0,403	0,485	»	0,445	0,400	0,445	0,431	0,453
Mg	1,44	1,40	»	1,33	1,34	1,36	1,33	1,48

Rapports ioniques :

Na/K	46,0	21,7	22,9	25,2	24,2	27,3	22,2	24,0
K/Ca	0,56	0,99	»	0,90	1,02	0,79	1,03	0,88
Mg/K	10,5	4,8	»	5,4	5,3	6,3	4,9	6,0
Mg/Ca	5,6	4,7	»	4,9	5,5	5,03	5,0	5,3

A l'examen de ce tableau, nous constatons que le sodium et le magnésium se trouvent dans l'hémolymph de ces deux Céphalopodes à une concentration tout à fait semblable à celle de l'eau de mer, le calcium y est un peu plus concentré et le chiffre du potassium est presque le double de celui obtenu pour l'eau de mer.

Cette teneur élevée en potassium est une caractéristique du milieu intérieur de ces Invertébrés marins ; elle était déjà notable chez le Crabe (43).

L'hémolymph des Céphalopodes ne paraît pas avoir été étudiée, du moins à notre connaissance, au point de vue de sa composition minérale, aussi n'avons-nous aucun chiffre à rapprocher des nôtres.

TUNICIERS

Avant de passer aux Vertébrés aquatiques, nous donnons les résultats des analyses faites sur le milieu intérieur d'un Tunicier : l'Ascidie (*Phallusia mamillata*) que R. PERRIER considère comme un Cordé dégénéré par la fixation.

La quantité de liquide obtenue par animal était trop faible pour nous permettre d'effectuer tous nos dosages, aussi avons-nous étudié l'hémolymph de deux lots d'animaux.

(43) L'importance pondérale du potassium est encore plus marquée dans l'hémolymph des Lépidoptères étudiée par A. DRILHON, puisque le chiffre du potassium varie de 1,35 à 1,95 par litre tandis que le taux du sodium dépasse à peine 0,200. *C. R. Soc. Biol.*, 1934. **115**, 1194.

MILIEU INTÉRIEUR DE L'ASCIDIE (*Phallusia mamillata*).

	Eau de mer	1 ^{er} Lot	2 ^{me} Lot	Chiffres de Bialaszewicz
Na	11,85	12,60	12,34	»
K	0,438	0,468	0,482	0,554
Ca	0,403	0,457	0,460	0,570
Mg	1,44	1,37	1,36	1,45

Rapports ioniques :

Na/K	46,0	45,0	43,5	»
K/Ca	0,56	0,52	0,53	0,49
Mg/K	10,5	9,3	9,0	8,4
Mg/Ca	5,6	4,9	4,8	4,2

La composition minérale de ce milieu intérieur est donc en tous points comparable à celle de l'eau de mer.

POISSONS

Dans cet embranchement, nos recherches sont réduites et n'ont porté que sur des animaux marins. Nous avons choisi deux Sélaciens : la Roussette et la Torpille, et un Téléostéen : le Congre.

A. — SÉLACIENS.

1° Nos résultats.

C'est le sérum d'un lot d'animaux que nous avons analysé dans les deux cas et voici les chiffres trouvés :

MILIEU INTÉRIEUR DE DEUX SÉLACIENS.

	Roussette	Torpille
Na	8,36	9,87
K	0,368	0,270
Ca	0,405	0,200
Mg	0,180	»

Rapports ioniques :

Na/K	36,5	62,3
K/Ca	0,46	0,69
Mg/K	1,57	»
Mg/Ca	0,73	»

2° Résultats donnés par les auteurs.

En 1929, Homer-W. SMITH a analysé le sang de plusieurs Sélaciens (44) ; dans le tableau de ses résultats, nous relevons les chiffres se rapportant au milieu intérieur de la Raie ; ils sont une moyenne exprimée en millimolécules par litre :

	Na	K	Ca	Mg
En millimolécules..	255,0	4,9	3,7	2,8
En gr. par litre.....	5,86	0,191	0,148	0,068
Na/K	K/Ca	Mg/K	Mg/Ca	
52,0	1,3	0,57	0,75	

BIALASZEWICZ en 1931 a obtenu les résultats suivants pour le sang de Roussette :

K : 0,463 ; Ca : 0,182 ; Mg : 0,163.

(44) *J. Biol. Chem.*, 1929, **81**, 407.

Le sang de ces deux Sélaciens a été étudié en 1935 par E.-A. PORA (45) ; nous relevons dans le tableau de ses résultats le chiffre du calcium qui est le seul cation dosé :

	Raie	Roussette
	—	—
Calcium par litre	Mâle : 0,162	0,170
	Femelle : 0,142	0,130

B. — TÉLÉOSTÉENS.

1° Nos résultats.

C'est le Congre qui a été l'objet de notre étude ; nous n'avons pu analyser le sang que d'un seul animal et avons trouvé les chiffres suivants :

Na : 4,88 ; K : 0,293 ; Ca : 0,193 ; Mg : 0,041.

Rapports ioniques :

Na	28,6	K	0,77	Mg	0,44	Mg	0,34
—		—		—		—	
K		Ca		K		Ca	

2° Résultats donnés par les auteurs.

Nous rapportons ci-après les chiffres trouvés par Homer-W. SMITH (46) pour le sang de Baudroie (*Lophius piscatorius*) ; ils sont une moyenne exprimée en millimolécules par litre :

	Na	K	Ca	Mg
	—	—	—	—
En millimolécules..	198,0	7,5	2,9	1,3
En grammes.....	4,55	0,292	0,116	0,031
	Na/K	K/Ca	Mg/K	Mg/Ca
	—	—	—	—
	26,4	1,3	0,34	0,44

(45) C. R. Soc. Biol., 1936, **121**, 291.

(46) J. Biol. Chem., 1929, **82**, 70.

En 1935, E.-A. PORA (47) a analysé le sang de *Labrus bergylta* en différenciant les sexes et a trouvé les chiffres suivants exprimés en grammes par litre, dans le dosage des cations :

	Na	K	Ca
Mâle	4,49	0,315	0,104
Femelle	3,61	0,424	0,252

Rapports ioniques :

Na	{	Mâle : 24,3	K	{	Mâle : 1,5
K		Femelle : 14,4	Ca		Femelle : 0,85

De cette étude sur le milieu intérieur des Invertébrés, nous pouvons tirer les premières conclusions générales suivantes :

1° Le milieu intérieur de tous les Invertébrés marins possède un taux de sodium et de calcium à peu près semblable à celui de l'eau de mer ou légèrement supérieur.

2° Chez les Invertébrés d'eau douce ou terrestres, la concentration du milieu intérieur en calcium est semblable à celle des Invertébrés marins, c'est-à-dire sensiblement égale à celle de l'eau de mer.

3° L'hémolymphe des Céphalopodes a une concentration en potassium à peu près double de celle de l'eau de mer. Chez le Crabe, on note en général une augmentation du taux de ce métal, mais elle est moins marquée et moins régulière. Le milieu intérieur de *Carcinus*

(47) C. R. Soc. Biol., 1936, **121**, 102.

mœnas contient environ deux fois moins de magnésium que l'eau de mer.

4° Si nous considérons les rapports ioniques, ils sont en général très variables ; seul, le rapport Mg/K semble diminuer à mesure que l'on s'élève dans l'échelle animale.

Il nous a paru intéressant de comparer la composition minérale de l'hémolymphe des Invertébrés à celle du sang des Vertébrés, c'est cette comparaison que nous établissons dans le tableau suivant :

COMPOSITION MINERALE DU MILIEU INTERIEUR

Teneur en grammes par litre

Rapports ioniques

	VERTÉBRÉS							
	Na	K	Ca	Mg	Na/K	K/Ca	Mg/K	Mg/Ca
Homme	3,25	0,190	0,100	0,020	29,0	0,96	0,33	0,32
Cheval	3,28	0,200	0,105	0,022	28,0	1,0	0,35	0,35
Chien	3,59	0,215	0,110	0,023	28,3	1,0	0,32	0,32
Chat	3,75	0,190	0,102	0,024	33,9	0,94	0,39	0,37
Cobaye	»	0,200	0,120	»	»	0,85	»	»
Lapin	3,55	0,199	0,100	0,028	30,2	1,02	0,45	0,46
Dauphin	3,47	0,180	0,183	0,048	32,8	0,50	0,87	0,43
Poule	3,45	0,220	0,127	0,024	26,7	0,88	0,34	0,30
Poissons :								
Congre	4,88	0,293	0,193	0,041	28,6	0,77	0,44	0,34
Baudroie	4,55	0,292	0,116	0,031	26,4	1,3	0,34	0,44
INVERTÉBRÉS								
Crustacés (eau douce)	4,30	0,160	0,500	0,100	39,0	0,20	1,2	0,30
Crustacés (marins)	13,50	0,630	0,600	0,650	37,0	0,52	3,2	1,65
Mollusques ... (terrestres)	2,35	0,190	0,550	0,500	18,0	0,20	3,5	0,75
Mollusques ... (marins)	11,50	0,800	0,445	1,38	23,7	0,92	5,0	5,0
Tuniciers	12,40	0,475	0,458	1,36	44,0	0,52	9,0	4,6
Echinodermes.	11,60	0,534	0,558	1,45	36,7	0,48	8,7	4,3
Eau de mer..	11,85	0,438	0,403	1,44	46,0	0,56	10,5	5,6

Les analyses du sang des Vertébrés ont été effectuées par différents auteurs, nous relevons la moyenne de leurs chiffres réunis dans le travail de R. GERSCHMAN (48) et nous rapportons nos résultats pour l'Homme et un Poisson téléostéen : le Congre.

Nous remarquons que chez les Mammifères et même chez les Oiseaux, la concentration du milieu intérieur en sodium, potassium, calcium et magnésium est sensiblement la même, de sorte que les rapports ioniques sont tout à fait comparables ; ces rapports restent à peu près semblables chez les Poissons, mais la salinité est déjà beaucoup plus forte (de 30 % environ). Par contre, les Mammifères marins offrent une indépendance totale et se rapprochent des Mammifères terrestres et, bien que leur taux de calcium et de magnésium soit nettement supérieur, les rapports ioniques restent comparables.

Ainsi, l'influence du milieu extérieur est notable à partir des Vertébrés inférieurs, mais, tandis que leur sang possède une certaine autonomie, l'hémolymphe des Invertébrés subit nettement l'influence du milieu où ils vivent.

En effet, l'hémolymphe des Invertébrés marins a sensiblement la même salinité que l'eau de mer, mais les rapports ioniques varient avec les différents embranchements ; chez les Tuniciers et les Echinodermes, ces rapports sont voisins de ceux du milieu extérieur.

(48) Travail de l'Institut de Physiologie de la Faculté des Sciences Médicales, Buenos-Aires, 1939.

CHAPITRE IV

Le Potassium musculaire

I. — Teneur en potassium des différents muscles dans la série animale.

Le taux du potassium du milieu intérieur des Invertébrés marins est toujours supérieur à celui de l'eau de mer, il est même le double chez les Céphalopodes ; cette constatation nous a incitée à rechercher quelles pouvaient être les répercussions de ces taux variables sur la teneur du muscle en potassium.

Nous avons choisi comme animaux d'expérience : *Holothuria tubulosa* dont le milieu intérieur est sensiblement l'eau de mer et deux Céphalopodes : *Sepia officinalis* et *Octopus vulgaris*.

Voici les résultats trouvés exprimés en grammes par kilogramme de tissu frais ; ils sont la moyenne de plusieurs dosages concordants :

Holothuria tubulosa.

	Muscles longitudinaux		Muscles circulaires	
1 ^{er} Animal.	5,66	} moyenne	3,55	} moyenne
	5,68			
2 ^{me} Animal.	5,88	} 5,80	3,34	} 3,33
	5,99		3,10	

Octopus vulgaris.

	Bras		Manteau	
1 ^{er} Animal.	4,41	} moyenne	4,81	} moyenne
	4,65		5,04	
2 ^{me} Animal.	4,61	} 4,56	4,82	} 4,84
	4,58		4,68	

Sepia officinalis.

	Bras préhensible		Bras ordinaire	
1 ^{er} Animal.	5,61	} moyenne	4,17	} moyenne
	5,80		4,81	
2 ^{me} Animal.	5,53	} 5,70	5,22	} 4,86
	5,79		5,04	
3 ^{me} Animal.	5,80		5,09	

	Manteau	
1 ^{er} Animal.	6,06	} moyenne
	6,35	
2 ^{me} Animal.	6,00	} 6,23
	6,05	
3 ^{me} Animal.	6,41	
	6,54	

Nous avons déterminé parallèlement le taux du potassium musculaire d'un Invertébré d'eau douce (*Astacus fluviatilis*) et d'un Invertébré terrestre (*Helix pomatia*) dont la teneur en potassium de l'hémolymph est voisine de celle du sang des Mammifères. Les chiffres obtenus sont les suivants :

Astacus fluviatilis.

	Pince		Queue
	—		—
1 ^{er} Animal. {	3,45	{	3,03
	3,52		3,07
2 ^{me} Animal. {	3,49	{	3,06
	3,39		3,35
3 ^{me} Animal. {	3,87	{	3,83
	3,98		

Helix pomatia.

Muscle du pied	Muscle columellaire
—	—
3,04	3,53
3,25	3,72
3,07	3,45

Ainsi, chez les Invertébrés marins, le taux du potassium musculaire est généralement très supérieur à celui des autres Invertébrés (49) ; de plus, on retrouve chez ces animaux des différences sensibles dans la teneur en

(49) Nos résultats rejoignent ici ceux de BIALASZEWICZ, mais ses chiffres sont bien plus élevés que les nôtres puisqu'il trouve par kilo de muscle frais : 8 gr. 18 pour *Holothuria tubulosa* et 7 gr. 75 pour *Sepia officinalis*. (*Arch. Intern. Physiol.*, 1936, **42**, 398).

potassium des divers muscles, différences qu'il est intéressant de rapprocher de certaines propriétés fonctionnelles de ces muscles : les muscles lents d'*Helix* se révèlent les plus pauvres en métal alcalin et semblent comparables aux muscles circulaires d'*Holothurie*. Au contraire, le muscle du manteau de la Seiche est très riche en potassium et « il se montre parfois aussi rapide que le muscle strié des Vertébrés ».

A. LEULIER et ses collaborateurs (50) avaient déjà montré que le taux du potassium est variable dans les divers muscles des Mammifères ; sur les conseils de notre Maître, nous avons recherché avec A. RICHARD (51) si, dans un même muscle, le myocarde, le taux du potassium est variable dans la série animale et si ce métal se trouve inégalement réparti dans les oreillettes et les ventricules.

Nos recherches ont porté sur un Invertébré, un Vertébré à sang froid et divers Mammifères. Voici nos résultats exprimés en grammes de potassium par kilogramme de tissu frais ; ils représentent la moyenne de plusieurs dosages concordants.

	Potassium	Chronaxie en σ
Escargot (<i>Helix pomatia</i>), ventricule...	3,11	30 à 50 (52)
Grenouille (<i>Rana esculenta</i>), ventricule.	3,30	2 (53)
Cobaye, ventricule.....	3,50	1 (54)

(50) C. R. Ac. Sc., 1928, **187**, 957.

(51) C. R. Soc. Biol., 1932, **110**, 837.

(52) Arch. Intern. de Pharmacol. et de Thérapie, 1930, **38**, 122

(53) A. RICHARD a déterminé la chronaxie du ventricule isolé à l'aide du chronaximètre de LAPICQUE.

(54) C. R. Soc. Biol., 1926, **94**, 1028.

Les organes précédents ne se prêtent pas à l'étude de la répartition du potassium dans les différentes parties en raison de leur petitesse ; nous avons donc étudié à ce point de vue les cœurs de Lapin et de Chien.

	Potassium				Chronaxie en "
	Oreillette		Ventricule		
	droite	gauche	droit	gauche	
Lapin	3,04	3,21	3,55	3,63	} 1 (54 *)
Chien	3,27	3,46	3,83	3,89	

On note chez *Helix pomatia* un taux de potassium légèrement inférieur à celui trouvé dans le cœur des Mammifères. Dans le myocarde de *Rana esculenta*, on en trouve un peu plus, mais moins que dans le myocarde du Cobaye. La répartition du potassium dans les diverses régions du cœur des Mammifères apparaît inégale avec une prédominance dans les ventricules. Dans la série animale le taux du potassium du myocarde est d'autant plus fort que ce dernier a une chronaxie plus faible sans qu'il y ait cependant proportionnalité.

A. LEULIER suggère alors de rechercher si, chez le jeune Chien et le jeune Pigeon, il ne serait pas possible de saisir un accroissement progressif de la richesse en potassium du muscle du squelette. On sait, en effet, que le Chien nouveau-né aveugle se traîne dans les premiers jours pour acquérir ensuite, après quelques semaines, une démarche plus assurée, sinon comparable entièrement à celle de l'adulte. D'autre part, le jeune Pigeon presque nu ne commence à voler qu'après plusieurs

(54 *) C. R. Soc. Biol., 1926, 94, 1028.

semaines. Nous avons donc dosé le potassium dans les muscles d'une portée de jeunes Chiens et chez de jeunes Pigeons dont on évaluait en même temps la chronaxie (au chronaximètre de BOURGUIGNON-WALTER) ; le tableau ci-dessous donne les résultats trouvés (55) :

Potassium en grammes pour 1.000 grammes de tissu frais

A. — CHIEN.

		A la naissance		Après 8 jours	
Muscle		K	Chronaxie en σ	K	Chronaxie en σ
—		—	—	—	—
Adducteur de la Cuisse	}	2,15	4	2,98	2,8
		2,22		3,01	
		2,16		2,98	
		2,17		3,03	
Eau en grammes %.....				84,0	
Poids en kilogrammes.....				0,670	

		Après 19 jours		Après 33 jours	
Muscle		K	Chronaxie en σ	K	Chronaxie en σ
—		—	—	—	—
Adducteur de la Cuisse	}	3,34	1 à 1,2	3,36	0,68 à 0,80
		3,27		3,25	
		3,26		3,54	
		3,13		3,59	
Eau en gr. %.		82,8		81,6	
Poids en kg...		1,120		1,670	

(55) Cette étude a été faite en collaboration avec G. BÉRUARD et A. RICHARD.

B. — PIGEON.

Muscles	Après 3 jours		Après 12 jours		
	K	Chronaxie en σ	K	Chronaxie en σ	
Biceps	2,98	2,00	3,43	»	
	3,10		3,29		
Pectoral ...	2,87	6,80	3,19	»	
	2,87		3,22		
Eau en grammes %...	Biceps		81,4		
			Pectoral ...	82,0	
Poids en gr...	60		190		

Muscles	Après 20 jours		Adulte	
	K	Chronaxie en σ	K	Chronaxie en σ
Biceps	4,74	0,40	5,55	0,04
	4,74		5,34	
Pectoral ...	4,55	1,00	4,80	0,28
	4,69		5,15	
Eau en gr. %.				
Pectoral ...	73,10		71,8	
Poids en gr...	280		340	

La composition chimique du muscle continue donc à se modifier pendant les jours qui suivent la naissance. Le potassium en particulier tend à s'accumuler dans la fibre musculaire en même temps qu'il se produit une déshydratation plus ou moins rapide. Là encore, il est impossible de ne pas remarquer que la chronaxie diminue en même temps que croît le pourcentage du métal alcalin.

Nous avons noté des faits analogues pour le jeune

Chat et le jeune Lapin en ce qui concerne le potassium comme le prouvent les chiffres suivants exprimés en grammes pour 1.000 grammes de tissu frais.

CHAT.

	Nouveau-nés		10 Jours	20 Jours
	I	II		
Poids en gr.	100	100	170	390
K ‰.....	2,92	2,75	3,53	3,88
Eau ‰.....	82		78	

LAPIN.

	Nouveau-nés		5 Jours	12 Jours	30 Jours
	I	II			
Poids en gr.	45	45	80	107	330
K ‰.....	3,04	3,10	3,78	4,17	4,48
Eau ‰.....			82,10	80,55	

A LEULIER propose à ce moment d'étudier les muscles du jeune Cobaye qui, au premier jour, possède des mouvements aussi rapides que l'animal adulte. Voici ce que nous avons trouvé :

COBAYE.

	I	1 Jour		8 Jours	
		II	III	I	II
Poids en gr.	76	85	90	100	100
K ‰..... {	4,67	4,80	4,67	4,17	4,45
	4,56	4,74	4,75	4,40	4,60

Il apparaît nettement, si l'on compare ces derniers chiffres à ceux donnés pour les adultes (4,93 à 5,25), que le jeune Cobaye possède sensiblement à la naissance le taux maximum de potassium musculaire ; il s'oppose donc de façon caractéristique au Chien, au Chat, au Lapin, au Pigeon, aussi bien par la composition chimique de ses muscles que par sa marche normale dès la naissance.

C'est encore sur les conseils de A. LEULIER et en collaboration avec G. BÉRUARD que nous avons analysé comparativement aux muscles volontaires, les muscles automatiques du jeune Cobaye, du jeune Chat et du jeune Pigeon.

Les résultats sont les suivants en ce qui concerne le cœur de ces animaux et le gésier du Pigeon.

1° CŒUR (K ‰).

CHAT				
Nouveau-nés			10 Jours	
I	II		—	
—	—			
3,71	3,72	}	3,65	
			3,68	
COBAYE				
1 Jour			8 Jours	
I	II	III	I	II
—	—	—	—	—
3,97	4,00	3,89	3,58	3,92
3,91	4,00	4,08	3,43	3,80

PIGEON

	3 Jours	12 Jours	20 Jours	35 Jours
	—	—	—	—
{	3,54	3,30	3,75	3,70
{	3,58	3,33		3,84

2° GÉSIER (K ‰).

PIGEON

3 Jours	12 Jours	20 Jours	35 Jours
—	—	—	—
4,10	4,42	5,20	4,83

De ce qui précède, il résulte que tous les jeunes animaux étudiés possèdent à la naissance dans leurs muscles automatiques une quantité de potassium analogue à celle que l'on rencontre chez l'animal adulte ; on note en effet chez le Chien adulte 3,86 ‰ de myocarde frais, chez le Cobaye adulte 3,50 ‰ de myocarde frais et chez le Pigeon adulte 3,62 ‰ de myocarde frais et 5,25 ‰ de gésier frais.

Il semble donc permis d'opposer les muscles automatiques aux muscles volontaires, les uns ayant atteint d'emblée leur teneur normale en potassium alors que chez les autres celle-ci progresse avec l'âge jusqu'à la marche parfaite, sauf en ce qui concerne le Cobaye.

II. — Sous quelle forme se trouve le potassium dans le muscle ?

Nous avons consulté à ce sujet les travaux de A.-J. CLARK (56), W.-O. FENN (57) et H.-B. STEINBACH (58) et nous empruntons à leurs exposés ce qui suit :

Tout d'abord il convient de noter que la composition ionique du protoplasma de la cellule musculaire et celle des fluides où baignent les tissus sont complètement différentes. GORTER (59) trouve les concentrations ioniques suivantes pour le muscle des Mammifères (en milliéquivalents par litre), l'eau étant supposée totalement libre.

	Eau du muscle	Eau du sérum
Na	48,0	154,0
K	112,0	5,0
Na/K	0,43	31,0

Les expériences de HILL et KUPALOV (60) montrent qu'une petite et négligeable fraction du potassium du muscle de la Grenouille est dépourvue d'action sur la pression osmotique et les déterminations de BOZLER et COLE (61), sur la conductivité interne des muscles de Grenouille, prouvent qu'il n'existe pas de composés du potassium non ionisés dans les fibres musculaires. A. BAIRD (62)

(56) *General Pharmacology in Handbuch der Exp. Pharmakol*, 1937.

(57) *Physiological reviews*, 1936, **16**, 450 à 487.

(58) *Journ. of Biological Chemistry*, 1940, **133**, 695.

(59) *Trans. Farad. Soc.*, 1937, **33**.

(60) *Proc. Roy. Soc. (B)*, 1930, **106**, 445.

(61) *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1935, **6**, 229.

(62) *J. of Biological Chemistry*, 1937, **117**, 73.

et ses collaborateurs étudient sur le Chien l'équilibre entre le sérum et le muscle et montrent qu'après une « équilibration » de trois heures et demie (le pH ayant varié de 7,4 à 7,32 et après la mort du muscle) l'eau, le chlore et le sodium sont entrés dans le muscle et le potassium est allé du muscle vers le sérum. FENN et ses collaborateurs (1935) ont pu observer, « in vitro », que le muscle perdant du potassium par immersion dans le liquide de Ringer, s'enrichit en sodium et en chlore.

En général, le chlorure de sodium entre à l'intérieur alors que le potassium diffuse à l'extérieur.

La perméabilité du muscle au potassium paraît réglée par des échanges entre le sang et le muscle suivant la concentration en métal alcalin et en ions hydrogène en dedans et en dehors de l'organe, comme s'il existait un équilibre de membrane et comme si les ions K et H étaient les seuls ions capables de passer. FENN et COBB, en 1935, montrent que les muscles de Grenouille prennent du potassium lorsqu'on les plonge dans du plasma de Grenouille additionné de potassium. Ils signalent l'influence du pH (63) : pour chaque pH il existe une concentration en potassium pour laquelle ce métal se trouve en équilibre de diffusion. Pour des concentrations en potassium plus grandes dans la solution, le potassium diffuse dans le muscle et inversement.

Le potassium lié ?

NEUSCHLOSZ, dans une série d'articles (1923, 1924, 1926), a cru pouvoir affirmer qu'une partie du potassium musculaire devait être combiné car il ne diffusait pas et ne

(63) Expériences sur Sartorius cinq heures dans Ringer.

pouvait pas être extrait par une solution isotonique de chlorure de sodium à partir du muscle hâché ; mais d'autres auteurs : RAAB (1927) ; SAGER et ROTH (1930) ; SAGER, ROTH et KREINDLER (1930) ; CALLISON (1931), ont affirmé que tout le potassium pouvait être extrait à l'aide de solutions salines (toutes les expériences ont été conduites dans des conditions qui s'éloignent fortement des conditions normales).

Afin de nous faire une opinion personnelle sur la question nous avons institué plusieurs séries d'essais sur le gastrocnémien de Grenouille maintenu pendant des temps très différents en contact avec des solutions salines diverses (50 cm³). Voici les chiffres trouvés :

Taux du potassium dans le gastrocnémien de Grenouille.

	Eau %			Eau %		
	6 Heures	10 Heures	24 Heures	6 Heures	10 Heures	24 Heures
K % de tissu frais....	4,40	4,27	4,25	4,40	4,27	4,25
	4,26			79,6	80,4	
Eau bidistillée.....	K %	1,49	0,90	1,29	(Changée au bout de 24 heures.)	52 Heures
	2,01	0,97	1,18	1,13	Traces infimes.	
			1,14	87,10		89,0
Sérum physiologique..	Eau %	1,87	88,0	2,14		
	K %	2,00	1,55	2,64		
	2,96	1,60	2,44			
	2,84					
	Eau %	85,8	81,0			
	2,86		2,80			2,29
Solution de Ringer....	K %	0,93	1,50	2,16		
	3,46	1,36	1,72	2,46		
	3,73	1,22	2,21	82,3		
	Eau %	86,2	82,4			
	Ringer sans KCl			Ringer + 8 fois KCl		
	6 Heures	10 Heures		6 Heures	10 Heures	
K %	3,52	1,07	3,57	3,80		
	2,18	0,81	3,68	3,60		
	2,00		3,40			
			4,29			
Eau %	84,8			82,0		

A l'examen de ces chiffres, on remarque deux faits incontestables :

Le premier, déjà noté par H.-V. HORTON, c'est que l'enrichissement du liquide de Ringer en potassium ralentit la diffusion de ce métal. Le second fait, c'est que le muscle de Grenouille peut perdre la presque totalité de son potassium par contact prolongé avec de l'eau distillée dans laquelle il s'hydrate fortement (64).

Cependant, si, comme le prétendent ERNST (1931), ERNST et FRICKER (1934), il existe dans le muscle de l'eau combinée, il peut par suite exister aussi du potassium en combinaison ; cette petite fraction du potassium combinée serait privée de pouvoir osmotique. Nos expériences à ce sujet n'apportent rien de décisif.

Les causes de la diminution du potassium musculaire.

De nombreuses investigations démontrent que dans certaines conditions les muscles perdent du potassium et gagnent de l'eau, du chlore et du sodium par stimulation.

ERNST et SCHEFFER (1928) trouvent un déficit de 30 à 50 % avec une stimulation extrême.

NEUSCHLOSZ a constaté que la section du sciatique de la Grenouille entraîne une diminution considérable du potassium fixé sur le gastrocnémien de la Grenouille. Après huit à dix jours, le muscle, séparé du nerf, accuse une teneur de 0,103 %, alors que l'autre, intact, en renferme 0,380 %.

Avec A. LEULIER et ses collaborateurs nous avons retrouvé ce fait en ce qui concerne le Lapin (65).

(64) Voir page 86 cœur de *Helix pomatia*.

(65) C. R. Soc. Biol., 1932, **110**, 848.

III. — Recherches, *in vitro*, sur la diffusion et la pénétration de l'ion K.

En 1934, FENN et COBB ont montré que les muscles gonflent et prennent du potassium à une solution isotonique de chlorure de ce métal qui est, pour ces auteurs, à 9 gr. ‰. La même année nous avons montré que l'enrichissement du liquide de Ringer d'une dose égale à huit fois la dose normale, a une action aussi efficace que des doses supérieures.

Notre but, dans les expériences qui vont suivre, a été de comparer, toutes conditions égales, la façon de réagir dans un même milieu, du myocarde et du gastrocnémien d'un même lot de Grenouilles. En utilisant des liquides de Ringer à teneurs variables en potassium sous forme de chlorure ou de sulfate nous pensions noter quelques différences dans les réactions de ces deux muscles.

Nos liquides de Ringer ont été établis de telle façon que leur point de congélation soit à très peu près égal à $-0^{\circ}47$, qui est celui du milieu intérieur des Batraciens. Nous avons toujours noté des abaissements du point de congélation situés entre $-0^{\circ}45$ et $-0^{\circ}47$. Le pH de nos liquides de Ringer, déterminé colorimétriquement, s'est tenu aux environs de 7,6, ce qui est conforme aux données classiques d'après lesquelles le pH des solutions de Ringer varie entre 7 et 8.

La durée de nos expériences a été étendue parfois jusqu'à vingt-quatre heures, ce qui peut paraître excessif pour la survie des muscles plongés dans des solutions hyperpotassiques, mais, dans nos déductions, nous ne tenons pas compte de ces résultats tardifs bien qu'ils

soient en conformité avec ceux obtenus dans des temps plus courts. La durée limite de six heures se rapproche de celle qui est adoptée par certains physiologistes, en particulier FENN (66) et ses collaborateurs.

Ces mêmes chercheurs signalent les inconvénients des lésions des muscles qui favorisent le passage des anions et par suite le gonflement. Nous n'avons pu éviter les sections des vaisseaux pour les cœurs, mais les gastrocnémiens ont été simplement débarrassés de la peau et les tendons sectionnés au point d'attache osseux (67). Signalons enfin que pour chaque lot de Grenouilles, prises dans le commerce local, nous avons toujours fait des dosages sur des organes d'animaux témoins. Nous avons eu plusieurs fois l'occasion de constater des variations sensibles suivant la saison et les recherches que nous présentons s'échelonnent sur plus de huit mois. W.-O. FENN (68) et ses collaborateurs ont observé des variations saisonnières analogues sur les nerfs de *Rana pipiens*.

La solution de Ringer pour la survie du cœur de Grenouille doit contenir, d'après les indications de H. CARPOT : 6 gr. 50 de chlorure de sodium (0,112 mol. gr.), pour 0 gr. 15 de chlorure de potassium (0,002 mol. gr.), avec CaCl_2 (0,001 mol. gr.), NaHCO_3 (0,001 mol. gr.) et NaH_2PO_4 (0,0001 mol. gr.). Le potassium et le sodium représentent au total 114 millimolécules dans un litre de solution. Pour maintenir ce total constant, nous avons

(66) *J. Gen. Physiol.*, 1934, **17**, 629.

(67) Nous remercions M. S. ADAM pour l'aide aimable qu'il a bien voulu nous prêter.

(68) *Am. J. Physiol.*, 1934, **110**, 74.

diminué le chlorure de sodium proportionnellement aux augmentations de chlorure de potassium. Ainsi, nous avons employé, en plus du Ringer type, des solutions à :

0,64 de K, soit par litre	{	1 gr. 22 de KCl
		5 gr. 74 de NaCl
1,25 de K, soit par litre	{	2 gr. 40 de KCl
		4 gr. 80 de NaCl
2,80 de K, soit par litre	{	5 gr. 35 de KCl
		2 gr. 45 de NaCl
3,55 de K, soit par litre	{	6 gr. 78 de KCl
		1 gr. 35 de NaCl

Sur les mêmes données nous avons préparé des solutions où le chlorure de potassium a été remplacé par le sulfate du même métal qui, on le sait, donne des osmose anormales.

Etant donné le faible poids des cœurs, il convient d'opérer sur des lots de Grenouilles variant de deux à quatre douzaines. En général, il nous a fallu quatre à six cœurs pour faire une prise d'essai convenable, égale à 0 gr. 15 environ. Par contre, un seul gastrocnémien peut se prêter à plusieurs dosages. Les cœurs doivent être privés de sang par légère pression et essuyés sur papier filtre. Il est nécessaire pour chaque essai de faire au moins deux dosages et sur les muscles normaux et sur les muscles immergés.

Les temps d'immersion dans 50 cm³ de liquide ont été de une, deux et six heures, rarement vingt-quatre heures. Les déterminations ont été faites sur les organes eux-mêmes et non sur le liquide d'immersion où il paraît difficile de saisir les variations avec une exactitude suffisante.

Voici nos résultats, qui représentent des moyennes de plusieurs dosages et concernent les tissus frais.

CHLORURE DE POTASSIUM

— 93 —

		Cœurs				Gastrocnémiens			
		1 h.	2 h.	6 h.	24 h.	1 h.	2 h.	6 h.	24 h.
RINGER	K ‰	N (*)	2,93	2,93	2,72	4,00	4,00	3,73	3,92
	I	2,31	1,94	1,76	1,31	4,00	3,36	2,48	1,85
Eau	‰	N	82,2	82,2	82,6	79,0	79,0	78,0	
	I	83,1	83,1	83,4		79,9	79,7	81,3	
RINGER	K ‰	N	2,75	2,61	2,78	3,96	3,68	3,79	
	I	2,39	2,54	2,31		3,98	3,69	3,73	
à 0 gr. 64 K ‰	Eau ‰	N	83,3	83,3	83,0	79,7	79,7	78,0	
	I	84,1	85,0	84,5		81,3	81,9	82,4	
RINGER	K ‰	N	2,63	2,63	2,60				2,63
	I	2,98	2,88	2,71	2,02				
à 1 gr. 25 K ‰	Eau ‰	N	84,3	84,2	82,3				
	I	83,4	84,2	84,9					
RINGER	K ‰	N	2,77	2,80	2,80	3,79	3,79	3,62	3,92
	I	3,62	3,68	3,57	3,62	4,00	4,02	3,89	3,10
à 2 gr. 80 K ‰	Eau ‰	N	83,1	82,2	82,2	78,0	78,0	79,2	
	I	84,2	85,2	85,2		80,4	82,4	84,2	
RINGER	K ‰	N				4,31	3,43	3,75	3,92
	I					4,46	4,10	4,20	4,37
à 3 gr. 55 K ‰	Eau ‰	N				79,3	80,0	79,5	
	I					79,3	81,9	86,3	

(*) N . normaux.

I = immergés

SULFATE DE POTASSIUM

		Cœurs				Gastrocnémiens			
		1 h.	2 h.	6 h.	24 h.	1 h.	2 h.	6 h.	24 h.
RINGER	K ‰.....	N (°)	2,32	2,42	2,45	3,66	3,66	3,88	3,86
	I	1,56	1,94	1,56	1,07	3,73	3,46	2,94	1,44
	Eau ‰.....	N	84,2	84,3	83,2	80,4	80,4	80,4	80,1
	I	82,8	84,0	85,3	85,9	79,7	81,2	82,1	83,3
RINGER à 1 gr. 25 K ‰	K ‰	N	2,29	2,86	2,86				
	I	2,96	2,54	3,11	2,29				
	Eau ‰.....	N	83,8	83,3	83,3				
	I	83,2	84,3	85,4	86,2				
RINGER à 2 gr 80 K ‰.....	K ‰	N	2,32	2,42	2,45	3,96	3,96	3,96	3,96
	I	2,86	3,10	2,76	2,94	3,98	3,83	3,53	3,12
	Eau ‰.....	N	84,2	84,3	83,2	79,4	79,4	79,4	79,4
	I	85,0	86,0	86,2	87,8	83,8	80,8	84,6	85,9
RINGER à 3 gr. 55 K ‰.....	K ‰	N		2,42	2,52	3,60	3,60	3,88	3,81
	I			2,95	3,42	3,80	3,80	3,43	3,44
	Eau ‰.....	N		84,3	84,9	80,2	80,2	80,4	80,3
	I			86,4	88,4	81,7	82,1	85,6	87,6

(*) N = normaux.
I = immergés

Dans les conditions expérimentales adoptées on n'observe pas de gonflement notable du myocarde, qu'il s'agisse de liquide avec chlorure ou avec sulfate de potassium ; l'hydratation des cœurs immergés ne dépasse jamais celle des organes témoins de plus de 3 %. Par contre, les gastrocnémiens prennent au bout de six heures de contact une surcharge d'eau pouvant atteindre 7 et 8 %. Cette hydratation paraît avoir une certaine proportionnalité avec le taux de potassium et on ne constate pas de différence sensible entre le chlorure et le sulfate de potassium.

En ce qui concerne le potassium musculaire, nous constatons que le myocarde et le gastrocnémien perdent tous deux, de façon assez régulière, du potassium dans le liquide de Ringer simple au chlorure ou au sulfate de potassium. La perte est environ du tiers ou du quart au bout de six heures et de la moitié ou des deux cinquièmes après vingt-quatre heures.

La diffusion du potassium musculaire vers le liquide extérieur se produit donc quel que soit le muscle et le sel de potassium utilisé (69).

En considérant les résultats obtenus avec des doses croissantes de chlorure de potassium, on voit qu'il s'établit d'abord un équilibre lorsque le taux du métal alcalin atteint 0 gr. 64, soit huit fois la dose normale (70). Puis, avec une dose double, on peut observer un passage

(69) A.-J. CLARK a observé en deux heures une perte d'un tiers du potassium dans le cœur de Grenouille plongé dans un Ringer dépourvu de ce métal. *J. Pharmacol. Baltimore*, 1922, **18**, 423.

(70) Un équilibre semblable a été signalé par HORTON. *Journ. Physiol.*, 1930, **70**, 389.

du métal alcalin dans les muscles. Mais ce passage devient d'une très grande netteté lorsque le myocarde ou le gastrocnémien baignent dans des liquides où la teneur en potassium se rapproche de la leur. Cette pénétration est telle qu'elle atteint un taux largement supérieur à celui du milieu extérieur. La teneur en potassium se tient au-dessus de 4 pour le muscle volontaire et de 3,50 pour le muscle automatique. Ce résultat est obtenu dès la première heure et persiste pendant vingt-quatre heures. Tout se passe comme si le tissu musculaire était saturé.

Ce sont des constatations du même genre que l'on peut faire avec le sulfate de potassium en ce qui a trait au myocarde. Cependant les enrichissements en métal alcalin sont moins élevés et le taux de 3 ‰ de tissu frais n'est que très rarement dépassé. Le sulfate de potassium se révèle donc incapable de saturer le muscle cardiaque.

Vis-à-vis du gastrocnémien ce sel se comporte d'une façon toute différente du chlorure de potassium. Ce muscle s'appauvrit, en effet, dans des liquides contenant largement assez de potassium pour faire équilibre. Bien plus, la dose de 3 gr. 55 de métal alcalin, qui se révélait si efficace sous forme de chlorure, est à peine capable, sous forme de sulfate, de maintenir le potassium musculaire.

Ces résultats rejoignent les observations déjà anciennes d'OVERTON (71) qui avait observé que le sulfate de potassium en solution isotonique ne provoquait pas de

(71) D'après : La perméabilité en physiologie et en pathologie. E. GELLHORN et J. RÉGNIER. 1 vol., Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1936, p. 189.

gonflement du muscle et ne permettait pas la pénétration du métal dans le tissu musculaire. Notons seulement que ce même sel semble favoriser la pénétration d'eau.

*
* *

Le cœur et le gastrocnémien de Grenouille perdent du potassium par immersion dans le liquide de Ringer normal ou modifié par addition de sulfate de potassium en remplacement du chlorure du même métal. On peut, avec le chlorure de potassium employé en quantité convenable, mettre les deux muscles en équilibre avec le milieu extérieur. Le sulfate de potassium peut agir de même sur le myocarde, mais non sur le gastrocnémien.

Il est possible de constater une fixation de potassium par les muscles plongés dans un liquide de Ringer où la proportion de chlorure de potassium est suffisamment élevée pour que le taux de métal alcalin soit voisin de celui des organes.

Le sulfate de potassium ne permet pas de provoquer le même phénomène sur le muscle strié volontaire. Il le provoque avec une intensité moindre sur le muscle strié automatique.

« In vitro », le chlorure de potassium permet de constater une perméabilité dans les deux sens. L'action du sulfate de potassium est moins générale.

Si le myocarde de Grenouille perd du potassium dans le liquide de Ringer privé de potassium (CLARK) ou insuffisamment riche en métal alcalin, il n'en est plus de même du myocarde de *Helix pomatia*.

En effet, nous avons constaté les faits suivants après

immersion d'une quantité suffisante de cœurs d'Escargots pendant des temps plus ou moins prolongés dans des solutions physiologiques (72) : normales, privées de métal alcalin, ou additionnées de deux fois la dose normale de potassium.

		Solution physiologique normale	Solution physiologique privée de K	Solution physiologique + 2 fois la dose de K
		—	—	—
K ‰ de tissu frais	7 heures... {	2,84	2,79	2,90
		2,92	2,68	2,85
	40 heures {	3,09	2,75	2,91
		2,83	2,79	2,91

Chiffres témoins : 2,82 ; 2,86 ; 2,94 ; 2,88.

Le potassium du cœur de *Helix pomatia* semble donc énergiquement fixé sur la fibre musculaire.

(72) La solution physiologique utilisée dans nos expériences de diffusion pour le cœur d'Escargot avait la composition suivante en molécules-grammes par litre :

NaCl	KCl	CaCl ²	MgCl ²
0,046	0,0043	0,0075	0,0125

Elle a été constituée d'après les analyses de l'hémolymphe faites par Valentine BONNET et nous-même pour les métaux alcalins et par A. CHARNOT pour les métaux alcalino-terreux.

CONCLUSIONS

1. — Les microméthodes utilisées nous ont permis de saisir des différences notables dans la répartition des divers cations du milieu intérieur des individus isolés d'une même espèce alors que les dosages sur des lots d'animaux pouvaient laisser croire à une teneur à peu près fixe.

2. — Appliquées à l'eau de la Méditerranée, ces mêmes méthodes conduisent à des chiffres identiques à ceux des macrométhodes anciennes et un peu supérieurs à ceux des eaux de l'Atlantique.

3. — Le sodium chez les Mammifères et les Oiseaux varie de 3,25 à 3,75 (73). Chez les Poissons et les Crustacés d'eau douce il oscille autour de 4,5. L'échelle de variations est très grande chez *Helix pomatia* puisqu'elle s'étend de 1,1 à 2,5 environ. Enfin, chez les Invertébrés marins le sodium varie de 11,50 à 13,50, chiffre égal ou légèrement supérieur à celui de l'eau de mer.

4. — Le potassium plasmatique des Mammifères et des Oiseaux varie de 0,180 à 0,220. Ces chiffres sont aussi ceux trouvés dans les Crustacés d'eau douce et les Mol-

(73) Tous nos résultats exprimés en grammes sont rapportés au litre.

lusques terrestres. Les Poissons ont un taux voisin de 0,300. Les Invertébrés marins montrent des variations oscillant entre 0,400 et 0,900. Ce dernier chiffre indique que ces animaux sont susceptibles de concentrer le potassium fourni par le milieu extérieur.

5. — Le calcium sérique des Mammifères est très voisin de 0,100 par litre, il serait un peu supérieur chez les Oiseaux et atteint 0,200 chez les Poissons. Le chiffre de calcium est remarquablement constant chez tous les Invertébrés marins, d'eau douce ou terrestres, il oscille autour de 0,500. C'est le seul cation qui offre cette uniformité malgré des conditions de vie et de milieu très différentes.

6. — Le magnésium augmente graduellement depuis les Vertébrés supérieurs jusqu'aux Invertébrés inférieurs où il atteint le chiffre de l'eau de mer ; il s'agit donc d'une variation d'une ampleur extraordinaire de 20 à 1.450 milligrammes.

7. — Dans l'hémolymph des Crustacés marins, tels que *Carcinus maenas*, les cations Na, K et Ca sont à une concentration plus forte que dans l'eau de mer, seul, le magnésium y est environ deux fois moins concentré.

8. — Chez les Céphalopodes, le sodium, le calcium et le magnésium ont sensiblement la même concentration que dans l'eau de mer, mais le potassium y est environ deux fois plus concentré. Les autres Invertébrés marins ont sensiblement la même teneur que l'eau de mer pour les quatre cations dosés.

9. — Si nous considérons les rapports ioniques, ils sont à peu près identiques chez tous les Vertébrés :

Le rapport Na/K est voisin de 30 chez les Mammifères et de 26 chez les Oiseaux et les Poissons.

Le rapport K/Ca oscille autour de 1 chez tous les Vertébrés. Quant aux rapports Mg/K et Mg/Ca ils varient de 0,35 à 0,45.

10. — Chez les Invertébrés ces mêmes rapports ioniques sont très variables sauf le rapport Na/K qui varie relativement peu de 37 à 44, exception faite pour les Mollusques où il oscille autour de 20. Le rapport Mg/K semble diminuer à mesure que l'on s'élève dans l'échelle animale : 9 chez les Tuniciers et 0,33 chez l'Homme.

11. — Les Céphalopodes concentrent le potassium dans leur milieu intérieur qui peut en contenir deux fois plus que l'eau de mer ; c'est le seul cation qui, dans le milieu intérieur, dépasse dans de telles proportions le taux trouvé dans cette eau.

12. — Les expériences « in vitro » paraissent incapables de révéler comment le muscle très riche en potassium le retient « in vivo » bien qu'il soit baigné par des liquides moins riches que lui, semblable en cela aux hématies qui ne cèdent leur métal alcalin que lorsqu'elles sont extravasées.

Il s'agit là d'une affinité élective qui paraît sous la dépendance de causes encore inaccessibles « in vivo ».

Il est impossible de trouver une explication de ce fait dans la richesse plus ou moins grande du milieu intérieur.

Cependant, il est possible de constater que, chez les Invertébrés, les muscles qui se révèlent les plus riches en potassium sont aussi considérés comme les plus rapides ainsi que cela s'observe chez les Vertébrés.

« In vitro » on peut constater le passage du potassium dans les deux sens, soit vers le muscle, soit vers le milieu extérieur. Mais l'influence de l'anion n'est pas négligeable et le chlorure de potassium seul permet d'obtenir régulièrement l'équilibre et l'enrichissement de la fibre musculaire.

Nos expériences « in vitro » ne nous ont pas permis de conclure, pour le gastrocnémien de Grenouille, à l'existence d'une forme du potassium lié, c'est-à-dire indiffusible.

Cependant, certains muscles automatiques, comme le myocarde de l'Escargot, retiennent énergiquement le métal alcalin lorsqu'on les plonge dans la solution physiologique normale ou privée de potassium.

A la fin de ces conclusions nous ne développerons aucune considération générale, mais nous pensons seulement avoir justifié ce que nous annonçons dans notre introduction en tenant simplement compte de nos résultats expérimentaux.

Les rythmes normaux de la vie des Vertébrés supérieurs ne paraissent comporter que de très légères variations dans la composition minérale ou organique de leur milieu intérieur, alors que chez les Invertébrés la vie paraît compatible avec des variations assez étendues aussi bien des substances organiques que des éléments inorganiques.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	7
CHAPITRE PREMIER. — <i>Les microméthodes utilisées pour le dosage des cations :</i>	
Potassium	13
Calcium	23
Magnésium	27
Sodium	32
CHAPITRE II. — <i>Le milieu extérieur</i>	39
CHAPITRE III. — <i>Le milieu intérieur</i>	45
Crustacés	51
Mollusques	60
Tuniciers	67
Poissons	68
CHAPITRE IV. — <i>Le potassium musculaire</i>	75
CONCLUSIONS	99

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

- a) *Chimie analytique et méthode scientifique.*
- b) *La Circulation libérienne.*

VU ET APPROUVÉ :

*Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Lyon,*

R. DOUIN.

LU ET ACCEPTÉ :

Les Membres du Jury,

H. CARDOT.

M. LEMARCHANDS.

R. KUHNER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 3 juin 1941.

*Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,*

E. GAU.

